

Aus dem Lehrstuhl für Neurophysiologie  
der Medizinischen Fakultät Mannheim  
(Direktor: Prof. Dr. med. Treede)

Die Rolle von A $\delta$ - und C-Faser-Nozizeptoren bei der Modulation spinaler  
neuronaler Plastizität im nozizeptiven System des Menschen.

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doctor scientiarum humanarum  
der  
Medizinischen Fakultät Mannheim  
der Ruprecht-Karls-Universität  
zu  
Heidelberg

vorgelegt von  
Florian J.S. Henrich

aus  
Landau (Pfalz)  
2019

Dekan: Prof. Dr. med. Sergij Goerd  
Referentin: Priv.-Doz. Dr. med. Sigrid Schuh-Hofer

*Für meine Großmutter Paula*

# INHALTSVERZEICHNIS

Seite

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	1
1 EINLEITUNG .....	2
1.1 Definition, Epidemiologie und Neuroanatomie .....	2
1.2 Differenzierung von Faserklassen und deren histologischen Eigenschaften..	3
1.3 Konzept der zentralen Sensibilisierung für den Übergang von akuten in chronische Schmerzzustände.....	4
1.4 Definition und Konzept von LTP als Schmerzmodell.....	4
1.5 LTP basiert auf intrazellulären Mechanismen .....	5
1.6 Humane Modelle zur Hyperalgesieinduktion und Nervenblockade .....	5
1.7 Hochfrequente Stromstimulation zur Hyperalgesieinduktion als Human- Surrogatmodell der Schmerz-LTP .....	6
1.8 Arbeitshypothesen .....	7
2 MATERIAL UND METHODEN.....	9
2.1 Probanden .....	9
2.2 Induktion von Langzeitpotenzierung des Schmerzes mit hochfrequenter elektrischer Stimulation (HFS) .....	9
2.3 Induktion und Überwachung der Desensibilisierung von TRPV1-positiven Afferenzen durch topisches Capsaicin.....	11
2.4 Induktion und Überwachung der Kompressionsleitungsblockade von myelinisierten A-Fasern .....	13
2.5 Elektrische und mechanische Testreize zum Monitoring der homo- und heterotopen Hyperalgesie und Allodynie .....	14
2.6 Mapping des Hyperalgesieareals .....	15
2.7 Datenauswertung und Statistik .....	15
3 ERGEBNISSE.....	16
3.1 Erstes Experiment: Modifikation der nozizeptiven Sensibilität der Haut durch Capsaicin und Monitoring der Capsaicindesensibilisierung .....	16

3.2	Zweites Experiment: Modifikation der A-Faserinnervation der Haut durch Kompression des N. radialis superficialis und Monitoring der A-Faserleitungsblockade.....	16
3.3	HFS-induzierter Schmerz.....	20
3.4	Homotope Schmerz-LTP .....	21
3.5	Heterotope Schmerz-LTP .....	22
3.6	Dynamisch-mechanische Allodynie .....	23
3.7	Kalkulation der primären afferenten Fasertypen .....	25
4	DISKUSSION.....	27
4.1	Kurzfassung der wesentlichen Befunde.....	27
4.2	HFS-aktivierte Faserpopulationen.....	27
4.3	Nozizeptoren, die zur homotopen Schmerz-LTP beitragen.....	28
4.4	Nozizeptoren, die zur heterotopen Schmerz-LTP beitragen .....	29
4.5	Beitrag der Nervenfasersubtypen zur Entstehung von LTP-induzierter dynamisch-mechanischer Allodynie.....	30
4.6	Modellentwurf anhand der eigenen Befunde.....	30
4.7	Methodische Limitationen .....	32
4.8	Schlussfolgerungen und Ausblick .....	33
5	ZUSAMMENFASSUNG .....	35
6	LITERATURVERZEICHNIS .....	36
7	TABELLARISCHER ANHANG.....	47
7.1	Datenkorrektur und Baseline- und Kontrollnormierung .....	47
7.2	Studienfinanzierung .....	50
8	LEBENS LAUF.....	51
9	DANKSAGUNG .....	52

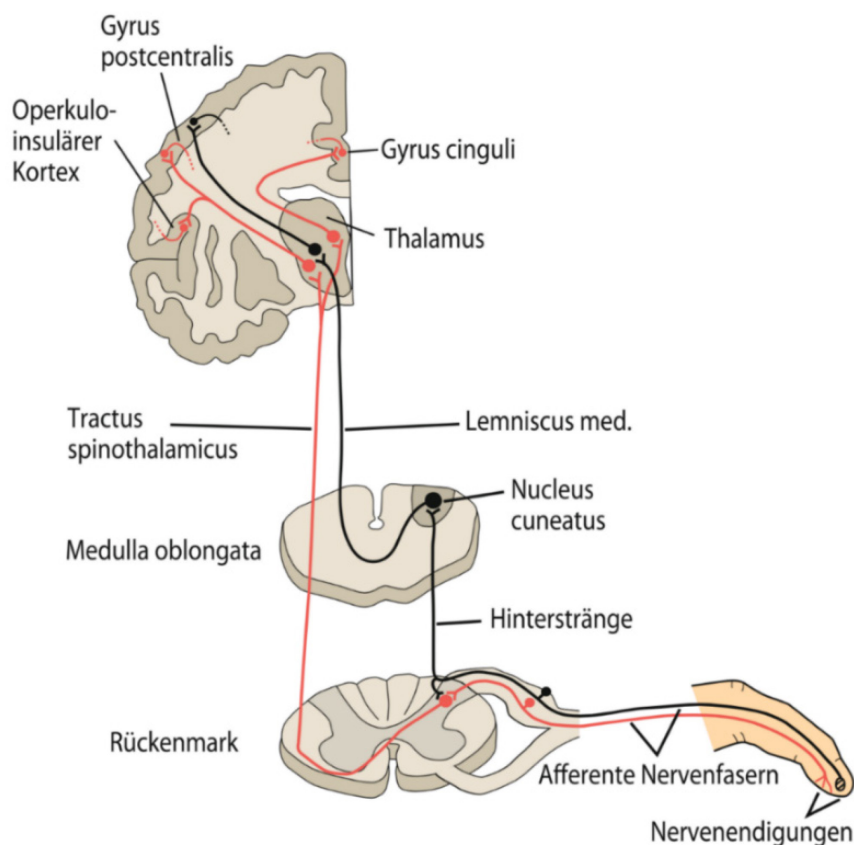
**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

Abkürzung	Beschreibung
AMH II	Myelinisierte A-Fasern Typ 2, mechanosensitiv, hochschwellig
AMPA	AMPA-Rezeptor, $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
BDNF	Wachstumsfaktor, Brain-derived neurotrophic factor
C-MIA I	Unmyelinisierte C-Fasern, Typ 1, mechano-insensitiv
CPSN	Central Pain Signaling Neuron
DMA	Dynamisch mechanische Allodynie
DRG	Dorsal Root Ganglion
EDT	Electrical Detection Threshold
EPS	Electrical Painful Sensitivity
HFS	High Frequency Stimulation
LFS	Low Frequency Stimulation
LTD	Longterm Depression
LTP	Longterm Potentiation
MPS	Mechanical Painful Sensitivity
MRGPRA3	Mas-related G-Protein coupled receptor A3
MRGPRB4	Mas-related G-Protein coupled receptor B4
MRGPRD	Mas-related G-Protein coupled receptor D
NK1-R	Neurokinin-1-Rezeptor
NMDA	NMDA-Rezeptor mit N-Methyl-D-Aspartat als Agonist
NMDA-R	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
QST	Quantitative Sensorische Testung
trkB	Tyrosinkinase-Rezeptor
TRPV1-R	Transiente Rezeptor-Potential-Kationenkanal der Unterfamilie V

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Definition, Epidemiologie und Neuroanatomie

Weltweit leiden ca. 20% der Bevölkerung unter (C. Schmidt, Chenot, & Kohlmann, 2017) chronischen Schmerzen. Trotz der erheblichen individuellen, aber auch volkswirtschaftlichen Relevanz wurde erst in jüngster Zeit die Entscheidung getroffen, chronische Schmerzsyndrome als eigenständige Entitäten in den ICD-Katalog (ICD: International Classification of Diseases) aufzunehmen (Nugraha et al., 2019). Chronische Schmerzen sind definiert als Schmerzzustände, die länger als drei Monate andauern bzw. wiederkehren. Chronische Schmerzpatienten können, bedingt durch pathologische Veränderungen des somatosensorischen Systems, unterschiedliche sensorische Muster aufweisen. Dabei zeigt sich, dass einerseits bestimmte, mit Schmerz assoziierte Krankheiten, *verschiedene* Arten von sensorischen Veränderungen hervorrufen können, andererseits aber auch die gleichen pathologischen sensorischen Muster bei ganz unterschiedlichen, mit Schmerz assoziierten Krankheiten, auftreten können. Dieser Ansatz impliziert, dass Schmerzmechanismen unabhängig von der Ätiologie sein können (Finnerup & Jensen, 2006; Truini, Garcia-Larrea, & Cruccu, 2013; Woolf et al., 1998), und dass eine mechanismen-basierte Diagnose neue Möglichkeiten einer individualisierten Behandlungsstrategie ermöglicht (Woodcock, Witter, & Dionne, 2007).



*Abbildung 1: Anatomie des nozizeptiven Systems*

*Eklärung siehe Text; (entnommen aus W. Magerl & Treede, 2017).*

Die Ursachen für die Chronifizierung von Schmerzen sind bisher nur in Teilen verstanden. Individuelle psychosoziale Umstände und psychiatrische Komorbiditäten haben einen erheblichen Anteil an der Transformation akuter in chronische Schmerzzustände. Auf neurophysiologischer Ebene spielen neuroplastische Veränderungen bei der synaptischen Übertragung der nozizeptiven Information auf Hinterhornneurone eine zentrale Rolle (Maier et al., 2010; Schliessbach et al., 2013) (vgl. Abschnitt 1.6). In der hier vorliegenden Arbeit soll der differentielle Beitrag der nozizeptiven Nervenfasern für die spinalen neuroplastischen Veränderungen, die im Zusammenhang mit der Entwicklung chronischer Schmerzen diskutiert werden, untersucht und diskutiert werden. Hierzu werden etablierte, humane Surrogatmodelle eingesetzt (T. Klein, W Magerl, R. Rolke, & R.D. Treede, 2005).

Die Informationsübertragung des nozizeptiven Inputs erfolgt in der Peripherie über zwei Nervenfasertypen: A $\delta$ -Fasern und C-Fasern. C-Fasern sind unmyelinisiert und verfügen deshalb nur über eine langsame Übertragung (Leitungsgeschwindigkeit: ca. 0.4-2m/s). Ihre Aktivierung wird subjektiv als diffuses Brennen berichtet. Im Unterschied hierzu haben A $\delta$ -Fasern aufgrund ihrer Myelinisierung eine höhere Leitungsgeschwindigkeit (ca. 2-33m/s). Aktivierung von A $\delta$ -Fasern wird subjektiv als diskretes ‚Pieksen‘ oder ‚Stechen‘ berichtet (R. F. Schmidt, Thews, & Lang, 2000). Beide Nervenfasertypen werden auf Höhe des Hinterhorns (Lamina 1 und 5) umgeschaltet (Abbildung 1), um dann – teils über weitere Schaltstationen auf Hirnstammebene – auf thalamische Kerngebiete erneut umgeschaltet zu werden. Von dort erfolgen einerseits – für die Vermittlung sensorisch-diskriminativer Information – Projektionen zum somatosensorischen Kortex und der Inselrinde, sowie andererseits - für die Vermittlung affektiv-motivationaler Informationen - Projektionen u.a. zum anterioren Cingulum (R.-D. Treede, 2011).

## 1.2 Differenzierung von Faserklassen und deren histologischen Eigenschaften

Nozizeptive Nervenfasern lassen sich – abgesehen von Kriterien wie dem Myelinisierungsgrad und der damit verbundenen Leitungsgeschwindigkeit – funktionell und immunhistochemisch charakterisieren. Ein für die hier vorliegende Arbeit relevantes Unterscheidungskriterium ist die Expression des Vanilloid-Rezeptors TRPV1, an dem der Agonist Capsaicin, das Extrakt der Chilschote, bindet. In Zellkulturen von humanen Spinalganglien wurde gezeigt, dass der Anteil von TRPV1-exprimierenden Neuronen zwischen 35% und 71% liegt (U. Anand et al. (2006). Beim Menschen wird TRPV1 vor allem auf C-Fasern exprimiert (Schmelz, Schmid, Handwerker, & Torebjork, 2000), tierexperimentell wurde der TRPV1 jedoch auch auf A $\delta$ -Fasern nachgewiesen (Ma, 2002; McCoy, Taylor-Blake, & Zylka, 2012; Mitchell et al., 2014). Immunhistochemisch wird zwischen peptidergen Fasern, die Substanz P und CGRP (Calcitonin-Gen-Related Peptide) enthalten, und nicht-peptidergen Nervenfasern, die sich durch Bindung von Lektin IB4 auszeichnen, unterschieden. In der Maus konnte gezeigt werden, dass über 90% der nicht-peptidergen kutanen Afferenzen den G-Protein-gekoppelten Rezeptor MRGPRD (Mas-related G-Protein coupled receptor D) exprimieren (Cavanaugh et al., 2009). Diese hauptsächlich capsaicin-negative Subpopulation von Nozizeptoren ist essentiell für die Detektion von nozizeptiven mechanischen Reizen und die Entwicklung von mechanischer Hyperalgesie durch Entzündungen. Sie trägt jedoch nicht zur Detektion von schmerzhafter Kälte und Hitze bei (Cavanaugh et al., 2009).



Elektrophysiologische Experimente zur direkten Untersuchung von menschlichen A $\delta$ -Fasernozizeptoren wurden bisher kaum durchgeführt und deren Empfindlichkeit auf Capsaicin als Hinweis auf eine TRPV1-Expression wurde bisher nicht bestimmt (Adriaensen, Gybels, Handwerker, & Van Hees, 1983; Bromm & Treede, 1983). Dennoch ist es wahrscheinlich, dass es auch beim Menschen eine Population von TRPV1-exprimierenden A-Faser-Nozizeptoren gibt, die Substanz P freisetzen können und durch eine Capsaicinbehandlung blockiert werden.

### 1.3 Konzept der zentralen Sensibilisierung für den Übergang von akuten in chronische Schmerzzustände

Die Sensibilisierung von Hinterhornneuronen gilt als ein zentrales Element für die Transformation akuter in chronische Schmerzzustände. Die zentrale Sensibilisierung der nozizeptiven Signalübertragung auf Rückenmarksebene umfasst mehrere potenzielle Mechanismen. Hierzu gehören 1) eine gesteigerte synaptische Signalübertragung, 2) eine reduzierte intraspinale segmentale bzw. absteigende Hemmung bzw. 3) eine gesteigerte absteigende Fazilitierung (Woolf & Salter, 2000). Der Nutzen dieses übergreifenden Konzepts wird derzeit intensiv diskutiert (Sandkühler, 2009; van den Broeke, 2018; Woolf, 2014). Der Begriff "zentrale Sensibilisierung" wird von der IASP (2018) wie folgt definiert: "Erhöhte Reaktionsfähigkeit von nozizeptiven Neuronen im zentralen Nervensystem auf ihren normalen oder unterschwelligen afferenten Input. [...] Dies kann eine erhöhte Reaktionsfähigkeit aufgrund von Funktionsstörungen endogener Schmerzkontrollsysteme beinhalten. Periphere Neurone funktionieren physiologisch normal, Funktionsänderungen treten nur in zentralen Neuronen auf" (übersetzt durch Verfasser).

Klinisch kann auf das Vorliegen einer zentralen Sensibilisierung nur indirekt über subjektive Wahrnehmungsphänomene wie ‚Hyperalgesie‘ oder mechanisch-dynamische Allodynie geschlossen werden. Bei der Hyperalgesie handelt es sich um eine gesteigerte Reaktion auf einen per se *schmerzhaften* Reiz. Dabei wird zwischen einer *mechanischen Hyperalgesie*, die sich auf eine gesteigerte Antwort auf einen mechanischen Schmerzreiz bezieht, und einer *thermischen Hyperalgesie*, die analog hierzu einer gesteigerten Schmerzantwort auf einen noxischen Hitze- oder Kältereiz entspricht, unterschieden. Im Gegensatz zur Hyperalgesie wird bei der mechanisch-dynamischen Allodynie ein *nicht-schmerzhafter Berührungsreiz* als schmerzhaft empfunden (siehe Taxonomie IASP (2018)). Im Areal der ‚primären Hyperalgesie‘ findet sich sowohl eine gesteigerte Empfindlichkeit für schmerzhaft mechanische Reize als auch für noxische Hitzereize. Im Umgebungsgewebe der geschädigten Region hingegen findet sich lediglich eine mechanische Hyperalgesie, während die Hitzeschmerzempfindlichkeit unverändert bleibt (=sekundäre Hyperalgesie) (R.-D. Treede, 2011)..

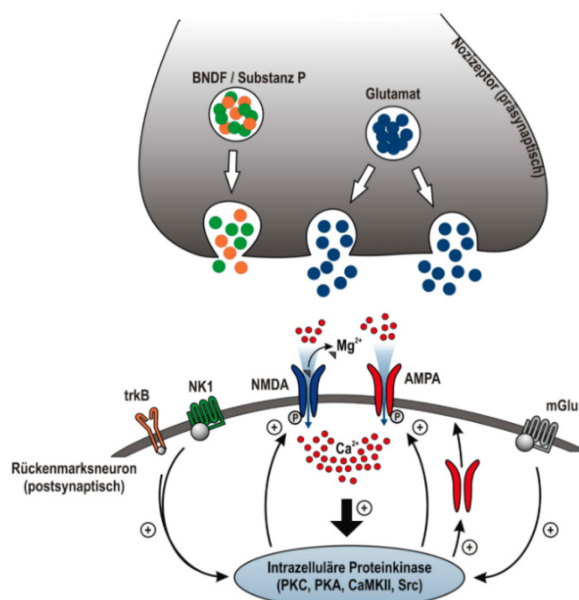
### 1.4 Definition und Konzept von LTP als Schmerzmodell

Zu den elektrophysiologisch gut definierten Phänomenen der synaptischen Plastizität gehört die ‚Langzeitpotenzierung‘ (LTP), also eine langandauernde Verstärkung der synaptischen Signalübertragung (Kandel, Schwartz, & Jessell, 2000). LTP stellt einen ubiquitären Mechanismus dar, der auf Verhaltensebene ein Modell für Lernprozesse darstellt (Cooke & Bliss, 2006; Ji, Kohno, Moore, & Woolf, 2003; vgl. Abbildung 2; Klein, Magerl, & Treede, 2006; Klein, Stahn, Magerl, & Treede, 2008; Ruscheweyh, Wilder-Smith, Drdla, Liu, & Sandkühler, 2011; Zeilhofer, 2005). Tierexperimentell

wurde das Phänomen der LTP zunächst im Hippocampus und am Neocortex intensiv untersucht (s.u.). Die erhöhte synaptische Wirksamkeit der *nozizeptiven* Übertragung auf Rückenmarksebene kann im Sinne einer Variante der allgemeinen Mechanismen der Langzeitpotenzierung (LTP) terminologisch als ‚Schmerz-LTP‘ bezeichnet werden (Klein, Magerl, et al., 2006). Dabei wird vermutet, dass Mechanismen der ‚Schmerz-LTP‘ am Hinterhorn analog zur LTP am Hippocampus oder Neokortex ablaufen (s.u.). Die spezifischen primär-afferenten Nervenfasersubtypen, die an der Induktion und Signalweiterleitung von humaner „Schmerz-LTP“ beteiligt sind, sind derzeit unbekannt. Deren Aufklärung spielt jedoch eine zentrale Rolle für die künftige, praktische Umsetzung zellulärer neurobiologischer Erkenntnisse in klinisch-therapeutische Ansätze (Sandkühler, 2009; Woolf & Salter, 2000; Zeilhofer, 2005).

### 1.5 LTP basiert auf intrazellulären Mechanismen

Abbildung 2 veranschaulicht die an der LTP involvierten Transmittersysteme, die auch relevant für die Schmerz-LTP beim Menschen sind (Klein, Magerl, Hopf, Sandkühler, & Treede, 2002; Klein et al., 2007). Glutamat aktiviert den AMPA-Rezeptor, wonach sich die Magnesiumblockade im NMDA-Rezeptor löst und große Mengen Calcium in die Zelle strömen können und Proteinkinasen aktivieren, die wiederum eine weitere Kaskade von Änderungen in der Zelle bewirken (LTP); BDNF und Substanz P verstärken diesen Prozess über NK1- und trkB-Rezeptoren (Klein, Magerl, Treede, & Pogatzki-Zahn, 2008).



*Abbildung 2: Synaptische Transmission an spinalen nozizeptiven Neuronen.*

*Erklärung siehe Text oben, BDNF brain-derived neurotrophic factor; trkA Tyrosin-kinaserezeptor A; NK1 Neurokinin-1-Rezeptor; NMDA N-Methyl-D-Aspartat; AMPA Alpha-amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionsäure; mGlu metabotroper Glutamatrezeptor; PKC Proteinkinase C; PKA Pro-teinkinase A; CaMKII Cal Ca2+/calmodulin-abhängige Proteinkinase; Src Tyrosinkinase; (entnommen aus W. Magerl & Treede, 2017).*

### 1.6 Humane Modelle zur Hyperalgesieinduktion und Nervenblockade

Um in der Schmerzforschung Mechanismen der zentralen Sensibilisierung untersuchen zu können, wurden mehrere humane Surrogatmodelle entwickelt. Eine Übersicht über die wesentlichen Surrogatmodelle zur Induktion von einer gesteigerten Schmerzwahrnehmung (Hyperalgesie) bzw. Eliminationsmodellen findet sich bei Vollert et al. (2018), W. Magerl und Klein (2006) und Klein et al. (2005.). Vollert et al. (2018) verglich QST-Profile (Rolke et al., 2006) von Surrogatmodellen mit QST-Profilen von Patienten mit Schmerzsyndromen, die explorativ geclustert wurden. Die Befunde deuten darauf hin, dass die A-Faserblockade eine Deafferenzierung von A-Fasern ähnlich ist während die Capsaicindeafferenzierung ähnlich einer Deafferenzierung von

C-Fasern ist. Hochfrequente Stromstimulation (HFS s.u.) ähnelt einer Hyperalgesie. Kurz zusammengefasst wurden in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. R-D. Treede verschiedene Methoden zu Induktion von Hyperalgesie im Menschen teilweise mitentwickelt und etabliert:

- 1) Ein wesentliches Modell ist dabei das Capsaicin-Modell, wobei Capsaicin in unterschiedlichen Applikationsformen eingesetzt werden kann: Abgesehen von der Möglichkeit einer subkutanen Injektion (W. Magerl, Wilk, & Treede, 1998) kann Capsaicin in Form eines Capsaicinpflasters (Qutenza™ 8%®) oder als Creme auf die Haut aufgetragen werden. Durch die Applikation von Capsaicin kommt es klinisch zu einer Hyperalgesie. Pathophysiologische Grundlage der durch Capsaicin induzierten Hyperalgesie ist eine selektive Aktivierung von TRPV1-positiven Fasern. Der TRPV1-Rezeptor gehört zur Vanilloid-Rezeptor-Unterfamilie der TRP (transient receptor potential)-Kanäle. Dieser non-selektive Kationenkanal ist capsaicinsensitiv, reagiert aber auch auf erhöhte Temperaturen, Säure sowie mechanische schmerzhaft stimulierte Stimulation (R. D. Treede, 2001).
- 2) Ein weiteres humanes Schmerzmodell ist die epikutane elektrische Hochfrequenz-Stimulation (HFS) (Klein, Magerl, Hopf, Sandkühler, & Treede, 2004). Über diese Stromstimulation werden alle Fasertypen gleichermaßen stimuliert und ebenfalls eine Hyperalgesie induziert (Kress, Koltzenburg, Reeh, & Handwerker, 1992; Messlinger, Pawlak, Steinbach, Trost, & Schmidt, 1995; Peng, Ringkamp, Campbell, & Meyer, 1999).

Eliminationsprotokolle: Nozizeptive Nervenfasern können entweder unselektiv oder selektiv durch Eliminationsprotokolle funktionell ausgeschaltet werden:

- 1) Durch die Applikation eines hochdosierten Capsaicin-Pflasters kann nach Vollert et al. (2018) davon ausgegangen werden, dass hiermit eine Deafferenzierung sowohl von A $\delta$ -Fasern als auch von C-Fasern erfolgt
- 2) Mithilfe einer sogenannten ‚A-Faserblockade‘, bei der ein Gewicht von 1,3kg transient im Areal eines oberflächlichen Hautnerven appliziert wird, kann erreicht werden, dass nozizeptiver Input, der über A $\delta$ -Fasern vermittelt wird, selektiv funktionell ausgeschaltet wird.
- 3) Durch den Einsatz dieser Eliminationsprotokolle können Rückschlüsse über den Beitrag verschiedener Fasertypen zur Hyperalgesie beim Menschen gezogen werden.

## **1.7 Hochfrequente Stromstimulation zur Hyperalgesieinduktion als Human-Surrogatmodell der Schmerz-LTP**

Im Tiermodell an der Ratte konnte gezeigt werden, dass hochfrequente elektrische Stimulation (HFS) von C-Nozizeptoren auf Rückenmarksebene zu einer LTP der synaptischen Übertragung führt (Cooke & Bliss, 2006; Ikeda, Heinke, Ruscheweyh, & Sandkühler, 2003; Ji et al., 2003; Lozier & Kendig, 1995; Randic, Jiang, & Cerne, 1993; Tan & Waxman, 2012; Vikman, Kristensson, & Hill, 2001). Analog hierzu kann beim Menschen durch HFS eine erhöhte Schmerzempfindlichkeit in der menschlichen Haut nachgewiesen werden. Die induzierte Hyperalgesie findet sich 1) an der HFS-konditionierten Stelle (=homotope Schmerz-LTP) sowie 2) in der angrenzenden Haut (=heterotope Schmerz-LTP, entspricht einer sekundären Hyperalgesie; (Klein, Magerl, Hopf, Sandkühler, & Treede, 2004; Thomas Klein et al., 2008; Lang, Klein, Magerl, &

Treede, 2007; R. D. Treede, Meyer, Raja, & Campbell, 1992; van den Broeke, van Heck, van Rijn, & Wilder-Smith, 2011)). Schmerz-LTP hält in der Regel mehrere Stunden bis zu 1-2 Tagen lang an und kann danach entweder vollständig abklingen (frühe dekrementelle LTP = LTP1 (LaMotte, Lundberg, & Torebjörk, 1992; Pfau et al., 2011), oder aber bei einigen Patienten in eine späte, nicht-dekrementelle LTP (LTP2) übergehen. Dies macht LTP2 zu einem potentiellen Modell für eine anhaltende Hyperalgesie bei Patienten mit chronischen Schmerzen. (Klein, Stahn, Magerl, & Treede, 2006; Pfau et al., 2011; Ruscheweyh et al., 2011; Rygh et al., 2006; Wilder-Smith & Arendt-Nielsen, 2006).

Die sekundäre Hyperalgesie, die sich nach Capsaicin-Injektion entwickelt, wird als eine heterotope Variante der Schmerz-LTP angesehen. Nach der bisherigen Modellvorstellung sind zwei sich gegenseitig ausschließende afferente Pfade hierfür verantwortlich, nämlich 1) capsaicinsensitive (d.h. TRPV1-positive) C-Nozizeptoren für die Induktion und 2) capsaicinunempfindliche (d.h. TRPV1-negative) Aδ-Mechanonozizeptoren für die Weiterleitung der Schmerzqualität (W. Magerl, Fuchs, Meyer, & Treede, 2001; Ziegler, Magerl, Meyer, & Treede, 1999).

Diese Modellvorstellung weist jedoch bezüglich seiner Verallgemeinerung auf andere Arten von Hyperalgesie im Zusammenhang mit der zentralen Sensibilisierung eine Reihe von Mängeln auf.

Erstens wird durch dieses Modell aufgrund des TRPV1-selektiven Agonisten Capsaicin die Möglichkeit einer Hyperalgesieinduktion durch TRPV1-negative Nozizeptoren ausgeschlossen (Brenneis et al., 2013). Dies würde bedeuten, dass z.B.

1. capsaicinunempfindliche MRGPRD-positive Nozizeptoren, die mechanischen Schmerzen vermitteln (Cavanaugh et al., 2009; Zhang, Cavanaugh, Nemenov, & Basbaum, 2013; Zylka, Rice, & Anderson, 2005),
2. MRGPRA3-positive Nozizeptoren, die Juckreiz vermitteln (Qu et al., 2014), oder
3. MRGPRB4-positive Fasern, die Empfindung angenehmer Berührung durch Streicheln vermitteln „pleasant touch“ (Olausson et al., 2002; Vrontou, Wong, Rau, Koerber, & Anderson, 2013)
4. bei der Entwicklung von Hyperalgesie nicht beteiligt sein können.

Zweitens enthielt dieses Modell keine Komponente der homotopen Schmerz-LTP, die eine C-Faser-induzierte Autofazilitation beinhalten kann (Hansen, Klein, Magerl, & Treede, 2007; Ikeda et al., 2006; Thomas Klein et al., 2004; Randic et al., 1993).

Drittens könnte die unterschiedliche Empfindlichkeit von C- und Aδ-Nozizeptoren gegenüber Capsaicin (Bachy et al., 2011; S. N. Lawson, Crepps, & Perl, 2002; S. N. Lawson, Crepps, & Perl, 1997; Ringkamp et al., 2001; Szolcsanyi, 1987) und mechanischen Reizen (Andrew & Greenspan, 1999; Garell, McGillis, & Greenspan, 1996; Slugg, Meyer, & Campbell, 2000) die Analyse beeinflusst haben, da A-Fasern einen größeren Beitrag zur Wahrnehmung haben als C-Fasern (R. D. Treede, 2001).

## 1.8 Arbeitshypothesen

Wie bereits beschrieben (s.o.), konnte im Tierversuch bereits gezeigt werden, dass TRPV1 positive C-Fasern zur Induktion der Hyperalgesie beitragen (Ikeda, Heinke, Ruscheweyh, & Sandkühler, 2003). Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit sollte die differentielle Rolle von Aδ- und C-Faser-Nozizeptoren bei der Modulation spinaler

neuronaler Plastizität im nozizeptiven System des Menschen untersucht werden. Dabei wurden folgende Arbeitshypothesen formuliert bzw. operationalisiert:

- (1) In Analogie zum Tierexperimente wird postuliert, dass auch beim Menschen hauptsächlich peptiderge C-Afferenzen für die Induktion nozizeptiver LTP verantwortlich sind.
- (2) Um diese Hypothese zu überprüfen, wird sowohl ein Capsaicin-Modell eingesetzt als auch ein Eliminationsmodell (A-Faser-Block).
- (3) Im Rahmen des Capsaicin-Modells wird postuliert, dass humane Schmerz-LTP nach (Capsaicin)Desensitivierung nicht mehr auslösbar ist.
- (4) Durch Einsatz des A-Faser-Blocks wird postuliert, dass die Blockade myelinisierter A-Fasern keinen bedeutsamen Einfluss auf die Schmerz-LTP hat.

Zur Überprüfung der Hypothesen wurden folgende zwei Methoden eingesetzt

1. Anhaltende Exposition gegenüber hochkonzentriertem Capsaicin (P. Anand & Bley, 2011; Cavanaugh et al., 2011; W. Magerl et al., 2001; Nolano et al., 1999; Rage et al., 2010) um TRPV1 positive C- und A-Fasern zu eliminieren und
2. A-Faser-selektive Leitungsblockade durch langandauernde leichte Nervenkompression (W. Magerl et al., 2001; Ziegler et al., 1999) um TRPV1-positive und negative myelinisierte A-Fasern eliminieren.

Anschließend wurde in den deafferenzierten Arealen Hyperalgesie mittels HFS induziert und das Ausmaß der Hyperalgesie mit standardisierten Methoden der quantitativen sensorischen Testung (Rolke et al., 2006) quantifiziert.

Die vorliegende Arbeit orientiert sich besonders an der Veröffentlichung Henrich, Magerl, Klein, Greffrath, und Treede (2015) und zieht die Erkenntnisse aus Vollert et al. (2018) mit ein.

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Probanden<sup>1</sup>

Fünfunddreißig gesunde männliche Probanden ( $24 \pm 3$  Jahre) nahmen an der Studie teil. Die Beschränkung auf männliche Probanden wurde gewählt, um potenzielle Interferenzen mit dem weiblichen Hormonzyklus zu vermeiden, der einen Einfluss auf die Variabilität haben kann. (siehe Greenspan et al. (2007) bzw. Martin (2009)). Vorläufige, bisher unveröffentlichte Daten, die am Lehrstuhl für Neurophysiologie der Medizinischen Fakultät Mannheim erhoben wurden, sowie veröffentlichte Daten zur Rolle von Geschlechtern bei Schmerz-LTP (siehe Pfau et al., 2011) deuten darauf hin, dass sich Frauen von Männern zwar nicht bezüglich der Induktion von Schmerz-LTP, jedoch bezüglich der Abnahme der Schmerzreduktion unterscheiden. Weitere, im Rahmen einer ausführlichen Anamnese überprüfte Ausschlusskriterien waren eine aktuelle medizinische Behandlung zum Zeitpunkt der Studienteilnahme, das Vorliegen von akuten Schmerzen oder eines chronischen Schmerzsyndroms, psychische Störungen oder aktueller bzw. zurückliegender Drogenmissbrauch in der Vergangenheit. Vor Beginn der Studie war ein positives Ethikvotum der der lokalen Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Mannheim eingeholt worden (2008-230A-MA vom 19.03.2008). Die Untersuchungen stehen im Einklang mit der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki in der revidierten Fassung von 2013.

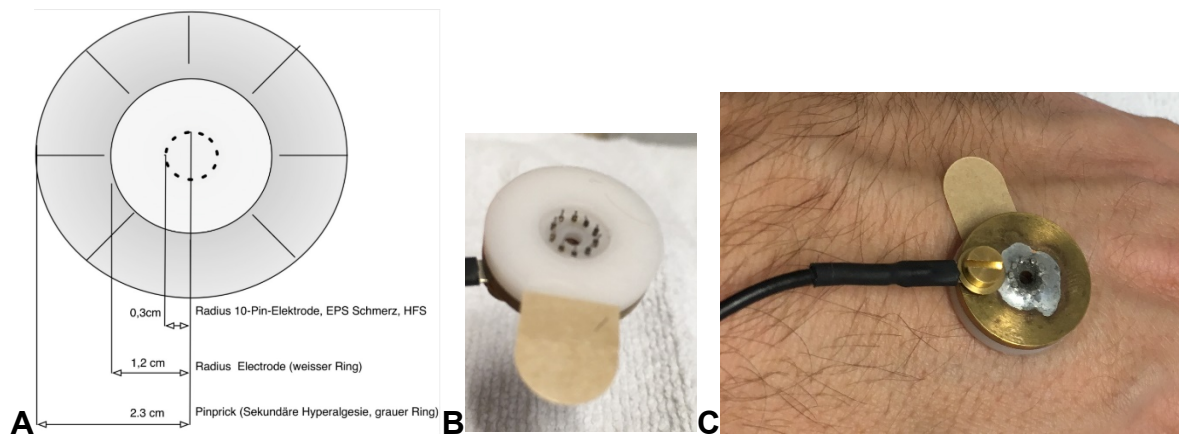
Zwanzig Probanden nahmen an dem ersten Experiment mit LTP-Induktion in capsaicindesensibilisierter Haut teil. Fünfzehn Probanden wurden in das Screening für das zweite Experiment (LTP-Induktion unter A-Faser-Leitungsblockade) aufgenommen, von denen drei wegen des Fehlens eines autonomen Innervationsbereichs des oberflächlichen N. radialis superficialis (vgl. Abbildung 15AB) ausgeschlossen wurden. Zwei Probanden nahmen an beiden Experimenten teil.

### 2.2 Induktion von Langzeitpotenzierung des Schmerzes mit hochfrequenter elektrischer Stimulation (HFS)

Die Schmerz-LTP wurde mit einer Elektrode induziert, die als ein Ring (Durchmesser: 6mm) von 10 punktförmigen Platinpinelektroden (Durchmesser: je  $250 \mu\text{m}$  pro Pin, vgl. Abbildung 3) angelegt wurde. Die Reizung wurde (Klein et al. 2004) durch einen Konstantstromstimulator (DS7H, Digitimer™) durchgeführt. Im ersten Experiment wurde die elektrische Detektionsschwelle (EDT) des ersten Tages vor der Capsaicinbehandlung verwendet, da die Capsaicindesensibilisierung die EDTs erhöhte. Im zweiten Experiment wurde die EDT zu Beginn des Experiments vor der Induktion des Kompressionsblocks bestimmt. Eine EDT wird analog zur Bestimmung einer Detektionsschwelle mit zwei über- und zwei unterschwelligen Werten erfasst und mit einem geometrischen Mittel gebildet (Methods of limits, Rolke, Andrews, Magerl, und Treede (2010); Rolke et al. (2006)).

---

<sup>1</sup> Es wird ausschließlich der Begriff „Probanden“ verwendet, dies schließt männliche wie weibliche Teilnehmer und Teilnehmerinnen in der allgemeinen Verwendung ein. In den hier vorgestellten Studien wurden nur männliche Probanden untersucht, s.u.

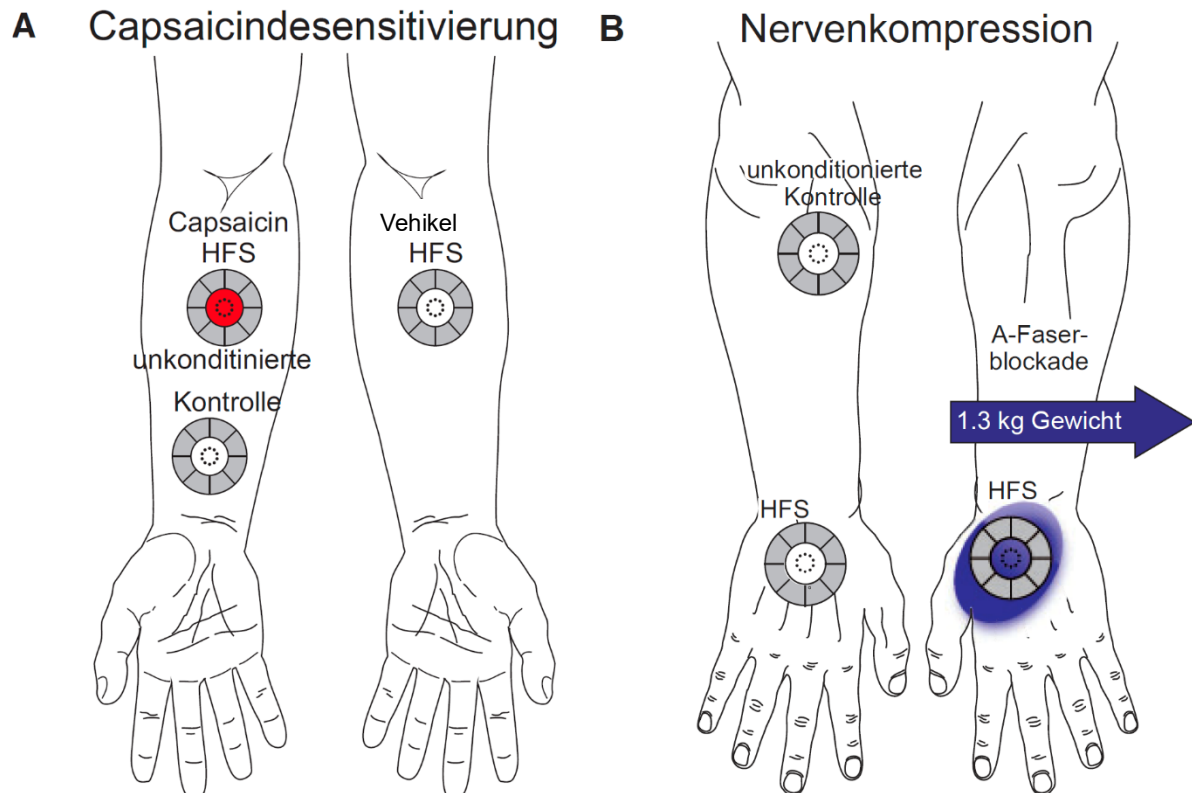


**Abbildung 3: Aufbau einer Reizelektrode**

*Diese Elektrode eignet sich sowohl für konditionierende Reize (hoch- wie niederfrequente Reize, HFS LFS) als auch für EPS, d.h. elektrische schmerzhaft Einzelreize, basierend auf 10fach der Detektionsschwelle; Schematischer Aufbau (A): In einem Hohlraum befinden sich 10 Pins, die gleichförmig angeordnet sind. Der Aufbau der Elektrode beruht auf Erfahrungswerten und wurde bisher nicht ausreichend systematisch untersucht. Auf den äußeren Ring wird ein EEG-Klebering aufgebracht und auf das Areal aufgeklebt. Am Oberarm wird eine Anode mit einem EEG-Erdungskabel angebracht (nicht abgebildet). Fotografie Reizelektrode Innenansicht (B) und aufgeklebt (C).*

Schmerz-LTP wurde durch HFS mit fünf 1-sekündigen Reizungen (Stimulationsfrequenz: 100 Hz, Pulsdauer: 2 ms) bei einer Reizstärke von  $10 \times$  EDT induziert. Das Stimulationsprotokoll der HFS soll eine verletzungsinduzierte hochfrequente neuronale Entladung nachahmen und damit Veränderungen in der synaptischen Übertragung hervorrufen, die einer echten Verletzung ähneln. In jedem Experiment wurden drei Elektroden aufgeklebt (Abbildung 4): Es wurden zwei Hautstellen durch HFS stimuliert (eine im Bereich der selektiven Nervenblockade, eine weitere in einem normalen Hautareal); eine dritte Hautstelle diente als unkonditionierte Kontrolle ohne HFS. Testbereiche im ersten Experiment (LTP-Induktion bei capsaicindesensibilisierter Haut) waren der obere Unterarm für die Capsaicinbehandlung, der kontralaterale Unterarm für die Vehikelbehandlung und der distale Unterarm am Handgelenk als unkonditionierte Kontrolle ohne HFS (Abbildung 4A). Im zweiten Experiment (LTP-Induktion unter A-Faser-Leitungsblockade des N. radialis) lagen die Testflächen auf dem Handrücken (Abbildung 4B). Für die Probanden, die an beiden Experimenten teilnahmen, lagen mindestens 4 Monate Pause, um eine vollständige Regeneration der mit Capsaicin behandelten Haut zu ermöglichen (Nolano et al., 1999; Rage et al., 2010).

Die Probanden wurden angewiesen, die wahrgenommenen Schmerzen für jede HFS-Reizung auf einer numerischen Bewertungsskala zu bewerten (NRS, verankert bei 0 = keine Schmerzen, 100 = maximal vorstellbarer Schmerz). Die Probanden wurden in einem vierten Hautareal vor Bestimmung der EDT für 5 Minuten im Ratingverfahren geschult.



**Abbildung 4: Positionierung der Elektroden in beiden Experimenten**  
 (Kleiner Kreis mit Punkten, hier wurden vor und nach der HFS auf allen drei Arealen elektrische Einzelreize appliziert um die homotope Schmerz-LTP zu erfassen und zur unkontrollierten Kontrolle kontrastieren zu können. Die grau schattierten Bereiche markieren jeweils das Areal zur Messung der sekundären Hyperalgesie mittels PinPrick. (A): erstes Experiment mit Capsaicindesensitivierung. HFS wurde an mit Capsaicin-Pflaster desensitiverter Haut (rote Markierung) und an der mit einem Vehikel-Pflaster (kontralaterale Seite) behandelten Haut durchgeführt. Unkontrollierter Kontrollbereich für elektrische Einzelreize und Pinprick am distalen Unterarm. (B): zweites Experiment mit A-Faser-Leitungsblockade. Zur Vorbereitung der Haut im Rahmen des zweiten Experiments (LTP-Induktion unter A-Faser-Leitungsblockade) wurde eine Bandkompression durchgeführt, bei der ein Gewicht von 1,3 kg auf das autonome Versorgungsgebiet des N. radialis appliziert wurde. Hierdurch wurde eine temporäre, funktionelle Deafferenzierung mit damit einhergehendem Verlust der A $\delta$ -Faser-bezogenen Empfindung erreicht (siehe blau schattiertes Oval) das Areal wurde in einem Screeningexperiment zu einem früheren Zeitpunkt charakterisiert. Als naiver Hautbereich zum Vergleich wurde die gegenüberliegende Hand verwendet. HFS-Elektroden wurden auf beide Handrücken gesetzt. Unkontrollierter Kontrollbereich für elektrische Einzelreize und Pinprick am proximalen Unterarm. Grau schattierter Bereich um die Elektrode: Testbereich für Pinprick-Testung. Entlehnt, korrigiert und modifiziert aus Henrich et al. (2015).

### 2.3 Induktion und Überwachung der Desensibilisierung von TRPV1-positiven Afferenzen durch topisches Capsaicin

Für das erste Experiment wurde eine Fläche von 4,5 cm<sup>2</sup> auf einem proximalen Unterarm mit einem 8%-igen Capsaicinpflaster (Qutenza®) für 2 × 22 h an zwei aufeinander folgenden Tagen vorbehandelt (Abbildung 5, Abbildung 4A+C, Abbildung 7). Die klinische Routine der Vorbehandlung mit topischen Lokalanästhetika wurde aus drei Gründen nicht genutzt: (1) der mit Capsaicin behandelte Bereich war klein und



damit die potenzielle räumliche Summation des nozizeptiven Inputs sehr schwach (Wilcox & Giesler, 1984); (2) dementsprechend wurde erwartet, dass capsaicininduzierter Brennschmerz moderat sein würde, wie in früheren Experimenten mit dieser Methode der Desensibilisierung bereits gezeigt (W. Magerl et al., 2001; W. Magerl, Szolcanyi, Westerman, & Handwerker, 1987); und (3) Lokalanästhetika kontrollieren capsaicininduzierten Schmerz nur effektiv bei niedriger Konzentration von Capsaicin (0,075%; Yosipovitch, Maibach, und Rowbotham (1999)), aber nicht bei höheren Konzentrationen von Capsaicin (1%; W. Magerl et al. (2001)). Wie erwartet, war der capsaicininduzierte Schmerz bei der Anwendung des ersten Qutenza®-Pflasters mild mit einem durchschnittlichen Schmerzrating von 17,9 auf einer 0-100 NRS ( $\log_{10}$ :  $1,256 \pm 0,080$ ). Die Schmerzratings sanken signifikant auf weniger als die Hälfte bei Anwendung des zweiten Qutenza®-Pflasters auf 6,8 ( $\log_{10}$ :  $0,841 \pm 0,141$ ,  $p < 0,001$ ), was eine deutliche Reduktion der Capsaicinempfindlichkeit bereits nach dem ersten Pflaster zeigte. Die maximalen Schmerzratings während der 22-Stunden-Periode für das erste und zweite Pflaster waren ebenfalls mild bis mäßig (im Durchschnitt  $32,4 \pm 12,8$  und  $18,9 \pm 10,3$  NRS). Die LTP-Induktion durch HFS wurde 24 Stunden nach Entfernung des zweiten Pflasters durchgeführt, um einen Rückgang der primären und sekundären Hyperalgesie zu ermöglichen. Der kontralaterale Unterarm wurde mit einem Vehikle-Pflaster von Qutenza™ behandelt.

Tag 1		Tag 2		Tag 3		Tag 4
Baseline: EDT, Laser,HPT,R50 Pflaster kleben	→ 22h Pflaster	1h nach 1. Pflaster: EDT, Laser,HPT,R50 Pflaster kleben	→ 22h Pflaster	1h nach 2. Pflaster: EDT, Laser,HPT,R50	→ Erholung	24 <sup>h</sup> nach 2. Pflaster: EDT, Laser,HPT,R50 Schmerz-LTP

*Abbildung 5: Ablauf und Monitoring der Capsaicindesensitivierung  
EDT Elektrische Detektionsschwelle, HPT Hitzeschmerzschwelle, R50 Rampe mit 50°C für 6 Sekunden.*

An beiden Arealen wurden standardisiert drei Testungen durchgeführt, um die Desensibilisierung von TRPV1-positiven Fasern zu verifizieren:

1. Eine Hitzeschmerzschwelle (HPT (Rolke et al., 2006)), gemessen mit einem Thermal Sensory Analyzer (TSA II, Medoc Ltd) und einer kleinen Peltier-Thermode ( $1,6 \times 1,6 \text{ cm}^2$ );
2. Schmerzratings für einen Hitzeschmerzstimulus mit einer Anstiegssteilheit der Hitzerampe  $1^\circ\text{C/s}$ ; Schmerzratings bei drei überschwelligen Hitzeschmerzreizen (beginnend und endend bei  $32^\circ\text{C}$  mit einer Zunahme und Abnahme von  $8^\circ\text{C/s}$  und 4 s Plateau bei  $50^\circ\text{C}$  mit der gleichen Thermode = R50); und
3. Schmerzratings für einzelne Thulium-Laserpulsen (470 mJ, 1 ms, Themis™, Starmedtec™) wurden in einem Feld rasterförmig von drei auf drei Laserreizen quantifiziert (= Laser).

Das Monitoring der Capsaicindesensitivierung wurde durchgeführt,

- 1) bevor das erste Pflaster aufgetragen wurde,
- 2) nach der Entfernung des Pflasters an den Tagen 2 und 3 (jeweils nach der Prüfung der Schmerzsensitivität gegenüber Hitze und
- 3) nach HFS am Tag 4.

- 4) Eine indirekte Bewertung der Funktionalität peptiderger Nozizeptoren, wie z.B. nozizeptorabhängige Blutflussreaktionen, wurde nicht durchgeführt, da zuvor gezeigt wurde, dass ein ähnliches Behandlungsprotokoll die Blutflussreaktionen fast vollständig eliminiert. Darüber hinaus wurde für längere Zeiträume beobachtet, dass sich psychophysische Antworten (getestet durch noxische Hitze) schneller erholten als Blutflussreaktionen (W. Magerl et al., 2001; W. Magerl et al., 1987).

## 2.4 Induktion und Überwachung der Kompressionsleitungsblockade von myelinisierten A-Fasern

Für das zweite Experiment wurde die A-Faser-Weiterleitung aus dem Innervationsbereich des an der Oberfläche liegenden N. radialis am Handrücken durch moderate Nervenkompression (1,3kg, siehe oben) reversibel blockiert (Ziegler et al., 1999). Der gegenüberliegende Handrücken diente als unbehandelte (naive) Kontrolle (Abbildung 6, Abbildung 4B+D, Abbildung 8). Für die Nervenblöcke wurde der nicht-dominante Arm in eine Röhre gelegt und mit einem kleinen Kissen fixiert, um Bewegungen von Arm und Hand zu vermeiden. Ein 2,5 cm breites Gummiband (Fahrradschlauch) wurde unmittelbar proximal des Handgelenks über den Unterarm gelegt, um den Hautast des N. radialis (N. radialis superficialis) gegen den darunterliegenden Knochen zu drücken. Das Band wurde mit einem 1,3 kg schweren Gewicht an der Unterseite des Gummibands belastet, wodurch ein sich über 1,5-2h langsam entwickelnder, aber schnell reversibler selektiver Leitungsblock entstand (Bromm & Treede, 1983; LaMotte & Thalhammer, 1982; W. Magerl et al., 2001; Ziegler et al., 1999). Die Probanden wurde instruiert, die Hand während der Blockinduktion ruhig zu halten.

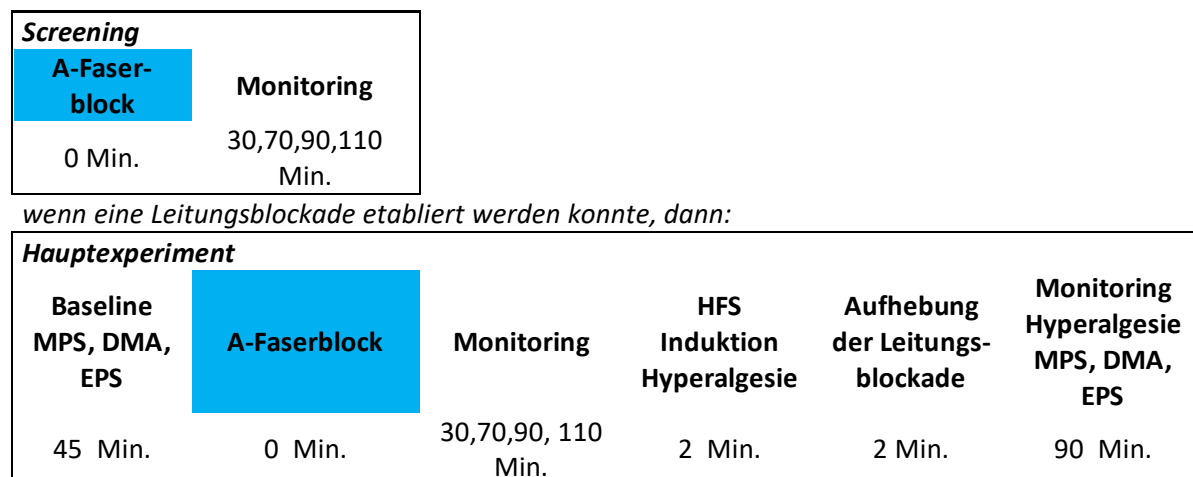


Abbildung 6: Ablauf und Monitoring der A-Faserblockade

Beim Monitoring wurde taktil mit Von-Frey-Haaren stimuliert. Wärmeapplikation: 50°C; Kälte: 4°C. Pinprick: -Testung der Reaktionszeit für ersten Schmerz.

Das Ausmaß der Leitungsblockade wurde bei 30, 50, 70, 90 und 110 Minuten nach Beginn der Kompression und einige Minuten nach Aufhebung der der Blockade überwacht. Wenn die Nervenblockade nach 110 Min. nicht vollständig etabliert werden konnte (siehe Kriterien unten), wurde das Experiment aus Sicherheitsgründen abgebrochen und der Probanden von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen (Abbildung 15A B). Außerdem wurde die Häufigkeit kurzer (<500ms) und langer (>500ms) mit einem elektronischen Pinprick (MRC™) von 256 mN per Reaktionszeittest erfasst und kartografiert. Alle Flächen wurden durch Photographie

dokumentiert (Abbildung 15 C D). Nach der Ausbildung der Leitungsblockade wurden Bereiche mit Verlust der taktilen Wahrnehmung und Kaltwahrnehmung kartiert (Sinclair, Weddell, & Zander, 1952), verfolgt und abfotografiert (Abbildung 15C D). Die Überwachungssequenz bestand aus der Messung der Detektion taktiler Reize, Wärmereize und Kältereize, sowie der Reaktionszeit auf mechanische Schmerzreize (Sinclair & Stokes, 1964; Ziegler et al., 1999). Zur Beurteilung der taktilen Detektion wurden 20 Reize in einem Hautareal von  $4 \times 5$  cm mithilfe von 4 mN von Frey-Haaren (1,1 mm Durchmesser) getestet. Zwanzig Reize mit warmen und kalten Reizen wurden zufällig mit wassergefüllten Glasröhrchen bei  $57^{\circ}\text{C}$  und  $7^{\circ}\text{C}$  appliziert. Dies entsprach bei kurzer Kontaktzeit von ca. 2 s effektiven Hauttemperaturen von  $40^{\circ}\text{C}$  und  $20^{\circ}\text{C}$ . Die Probanden mussten die Augen schließen und antworten, ob sich die Reize entweder "warm", "kalt", "taktil" oder "unklar" anfühlten. Mechanische Schmerzreize wurden im gleichen Bereich mit 256 mN Pinprick (MRC Systems™) appliziert. Um den Verlust der ersten, schnellen Schmerzantwort (die durch A $\delta$ -Fasern vermittelt wird) von der zweiten, langsamen Schmerzantwort (die C-Faser vermittelt ist) zu trennen, erhielt der Proband eine digitale Stoppuhr, die er mit der freien, dominanten Hand bedienen konnte. Sobald der Proband eine Schmerzempfindung wahrnahm, sollte er die digitale Stoppuhr stoppen. Um Fehlbestimmungen zu vermeiden, wenn Reize nur schwach wahrgenommen wurden, wurde jeder Pinprick-Applikation ein akustisches Signal vorangestellt. Bei jedem Monitoringdurchgang wurden die Probanden angewiesen die Augen zu schließen oder vom Testareal wegzuschauen.

Die Kriterien für die Annahme eines selektiven und vollständigen A-Faserblocks waren: Verlust der taktilen Detektion und Kälteerkennung auf einer Fläche von mindestens  $3 \times 3$  cm<sup>2</sup> sowie eine Verlängerung aller Reaktionszeiten auf Pinprick auf  $>500$  ms. Die Wärmedetektion musste gleichzeitig vollständig erhalten bleiben (A-Faserselektivität) (Ziegler et al., 1999). Ein Verlust der Wärmedetektion impliziert eine Beeinträchtigung der C-Faser-Funktion und war somit ein Ausschlusskriterium (Abbildung 15A B). Der autonome Innervationsbereich des oberflächlichen Radialastes wurde vorher in einem Screeningexperiment charakterisiert, um einen Bereich für die Elektrodenplatzierung im Hauptexperiment zu identifizieren. Der autonome Innervationsbereich war reproduzierbar über die Zeit stabil (Campero, Serra, & Ochoa, 2005).

## **2.5 Elektrische und mechanische Testreize zum Monitoring der homo- und heterotopen Hyperalgesie und Allodynie**

Homotope Schmerz-LTP wurde mit einzelnen elektrischen Testreizen (2 ms Dauer,  $10 \times$  EDT) durch die für HFS verwendete Elektrode getestet und auf der 0-100 NRS bewertet, um die elektrische Schmerzempfindlichkeit zu schätzen (EPS). Heterotope Schmerz-LTP wurde mit mechanischen Reizen getestet. Hierzu wurden kalibrierte, gewichtete PinPrick-Metallstift mit einem Durchmesser von 250  $\mu\text{m}$  und sieben verschiedenen Kräften (geometrische Reihe von 8-512 mN; MRC-Systems™, Abbildung 17) aufgebracht; die mittlere NRS-Bewertung über diese Reize zeigte eine mechanische Schmerzempfindlichkeit an (MPS; Rolke et al. (2010); Rolke et al. (2006)). Das Vorhandensein von Schmerzen bei leichter Berührung, d.h. dynamischer mechanischer Allodynie (DMA), wurde mit einem Wattebausch, einem kalibrierten Q-Tip und einem weichen Pinsel getestet, wobei diese in 1-2 cm Strichen über die Haut bewegt wurden (Abbildung 17)). Homo- und heterotope Testreize wurden alle 5 Minuten, insgesamt acht Mal vor der HFS (Baseline/Pre HFS) und 16 Mal nach der HFS, an den drei Testorten appliziert (Abbildung 4, Abbildung 16). Ein Bereich wurde

mit Nervenblockade oder HFS behandelt, ein Bereich nur mit HFS und der dritte Bereich war eine unkonditionierte Kontrolle ohne HFS zur Überwachung der Habituation oder anderer Schwankungen der Schmerzempfindlichkeit.

## **2.6 Mapping des Hyperalgesieareals**

Der Bereich der sekundären Hyperalgesie mit einem Pinprick-Stimulus von 256 mN wurde auf acht Winkeln (alle unter einem Winkel von 45°) 45 und 90 Min. nach HFS erfasst und kartiert, indem das Testfeld in kleinen Schritten von wenigen Millimetern Richtung HFS-Reizort verschoben wurde (Huang, Ali, Trivison, Campbell, & Meyer, 2000). Die Tests begannen weit außerhalb der hyperalgetischen Haut und bewegten sich langsam auf die HFS-Stelle zu. Die Grenze des sekundären Hyperalgesiebereichs wurde durch eine abrupt erhöhte Schmerzhaftigkeit des Pinprickstimulus identifiziert und durch Verschieben des Teststimulus innerhalb und außerhalb des Hyperalgesieareals auf eine Genauigkeit von 1 mm abgebildet.

## **2.7 Datenauswertung und Statistik**

Die statistische Analyse wurde mit SPSS 20 (IBM™) und Excel 2010 (Microsoft™) berechnet. Um eine annähernde Normalverteilung der Ratingdaten zu erhalten, wurde für alle NRS-Ratings eine Konstante von 0,1 hinzugefügt (siehe auch Abschnitt 7.1), um den Verlust von Null-Ratings zu vermeiden, und diese wurden dann mit  $\log_{10}$  transformiert (W. Magerl et al., 1998). Alle  $\log_{10}$ -Ratings wurden auf die Baseline (erste acht Ratings vor HFS) normiert. Die mechanische und elektrische Schmerzempfindlichkeit wurde in einem zweiten Normierungsschritt zusätzlich auf die unkonditionierte Kontrollstelle normiert (Differenz der Log-Werte). DMA-Bewertungsdaten wurden nicht normalisiert, da diese taktilen Reize normalerweise keine Schmerzen hervorrufen und eine Normalverteilung durch Transformation nicht erzielt werden kann.

Die Ratings für HFS-induzierten Schmerz, laserinduzierten Schmerz und Hitzeschmerz bei 50°C noxischer Hitzereizung wurden nach Zugabe von 0,1 ebenfalls  $\log_{10}$ -transformiert. Der geometrische Mittelwert wurde auch für Reaktionszeiten in den Experimenten mit A-Faserleitungsblockade zur Überwachung des Übergangs von erstem Schmerz (vermittelt durch A $\delta$ -Fasern) zum zweiten Schmerz (C-Faservermittelt), sowie für EDT berechnet. Alle statistischen Unterschiede wurden durch Varianzanalyse (ANOVA) oder gepaarten bzw. ungepaarten t-Tests berechnet. Die Daten werden entweder als arithmetisches Mittel und Standardfehler des Mittelwertes (SEM) für nicht logarithmisch transformierte Daten, bzw. für Reaktionszeitdaten und Schmerzsratings dargestellt und zusätzlich als delogarithmierter Mittelwert und SEM der logarithmisch transformierten Daten angezeigt.

### 3 ERGEBNISSE

#### 3.1 Erstes Experiment: Modifikation der nozizeptiven Sensibilität der Haut durch Capsaicin und Monitoring der Capsaicindesensibilisierung

Die Capsaicinpflaster wurden auf dieselbe Hautstelle am Unterarm für jeweils  $2 \times 22$  h geklebt, gefolgt von einer 24 h Ruhezeit. Das wiederholte Capsaicinpflaster erhöhte die Hitzeschmerzschwellen und eliminierte den Schmerz bei überschwelligen Hitzereizen (Abbildung 7, Tabelle 1). Die anfängliche Hitzeschmerzschwelle war für beide Seiten mit  $45,6^{\circ}\text{C}$  am Testunterarm gegenüber  $45,5^{\circ}\text{C}$  am Kontrollunterarm nahezu gleich ( $p = 0,63$ ). An der Stelle des Placebo-Pflasters (kontralateral) blieb die Hitzeschmerzschwelle an allen vier Tagen nahezu konstant (gepaarter t-Test,  $p > 0,71$ , Abbildung 7A). In capsaicinbehandelter Haut stieg die Hitzeschmerzschwelle von  $45,5^{\circ}\text{C}$  auf  $49,9^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0,001$ ) und lag bei den meisten Probanden (19/20) über der oberen Grenze der zulässigen Reiztemperatur ( $50^{\circ}\text{C}$ ). Der Schmerz bei kurzer Stimulation mit maximal zulässiger Reiztemperatur ( $50^{\circ}\text{C}$ , 4 s Plateau) war an Tag 1 für beide Seiten mit Ratings von 40/100 NRS identisch. Für die vehikelbehandelte Haut blieb sie an den nachfolgenden Testtagen unverändert (39/100), während der Hitzeschmerz sich in capsaicinbehandelter Haut an allen Tagen der Behandlung stark reduziert auf 1/100 an Tag 1, 0,5/100 an Tag 2 und 0,12/100 an Tag 3 (gepaarte t-Tests, alle  $p < 0,001$ , Abbildung 7B). Die Schmerzzratings mit 470 mJ Laser-Stimuli waren auf beiden Seiten vor der Anwendung von Vehikel (28,6/100) und Capsaicinpflastern (27,7/100) ähnlich. Bei vehikelbehandelter Haut blieben die laserinduzierten Schmerzen vom ersten bis zum letzten Tag nahezu unverändert ( $p = 0,53$ , Abbildung 7C), sanken aber bei capsaicinbehandelter Haut auf 0,12/100 ab ( $p < 0,001$ , gepaarter t-Test).

#### 3.2 Zweites Experiment: Modifikation der A-Faserinnervation der Haut durch Kompression des N. radialis superficialis und Monitoring der A-Faserleitungsblockade

Zur Vorbereitung des Experiments wurde die Leitfähigkeit von A-Faseraxonen durch eine langandauernde Kompression des N. radialis superficialis temporär ausgeschaltet. Die Überwachung der A-Faser-Leitungsblockade zur Vorbereitung des zweiten Experiments ist in Abbildung 8 bzw. Tabelle 2 dargestellt. Dargestellt ist die mittlere Zeit bis zum Erreichen aller Kriterien für eine vollständige A-Faserblockade, untersucht in einem Innervationsterritorium mit einer Fläche von mindestens  $3 \times 3$  cm. Untersucht wurden die Kaltwahrnehmung, taktile Wahrnehmung, die Reaktionszeit auf einen mechanischen Reiz (PinPick der Stärke 256mN) sowie die Wahrnehmung von Wärme. Die mittlere Zeit bis zum Erreichen der vollständigen Blockade betrug  $\sim 90$  Min (zwischen 30-110 min) (Abbildung 15C D). Drei Probanden erreichten die Blockkriterien nach 110 Minuten im Screening nicht und wurden vom Hauptexperiment ausgeschlossen (z.B.: Abbildung 15A B). Die A-Faser-Blockade wurde unmittelbar nach der HFS gelöst, so dass sowohl vor als auch nach der HFS sensorische Tests in der Haut mit einer funktionell intakten A-Faserleitung durchgeführt wurden.

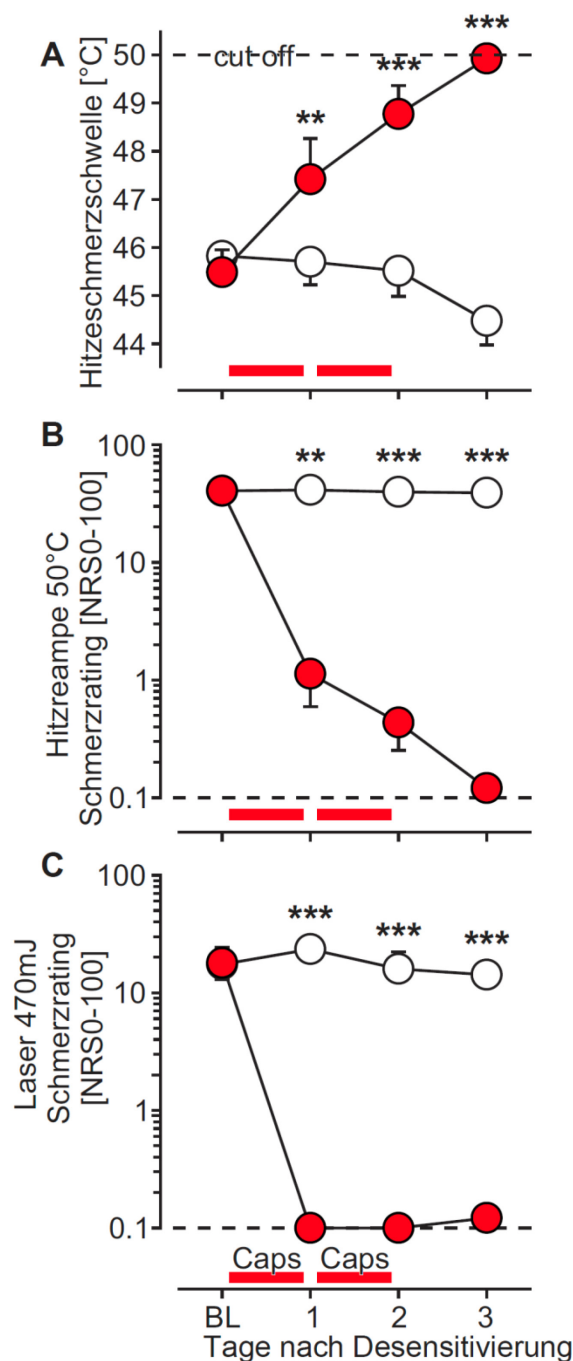


Abbildung 7: Monitoring der sensorischen Folgen der Capsaicindesensitivierung zur Vorbereitung der Haut im Rahmen des ersten Experiments

Rot Kreise: Capsaicinbehandelte Haut, Weiß Kreise: vehikelbehandelte Haut. Vorbereitung für LTP-Induktion in capsaicindesensibilisierter Haut an 20 Probanden. Fehlerbalken zeigen den Standardfehler des Mittelwertes (SEM) an. A: Erfassung des Funktionsverlustes von TRPV1-positiven Afferenzen am Unterarm durch Hitzeschmerzschwellen B: Hitzeschmerz überschwelliger Hitzereize durch Peltier-Thermode (50°C, 4-s Plateau); C: überschwellige Hitzereize durch Laserstimulation. Baseline vor der Pflasterapplikation (BL), nach 22 h Capsaicinpflaster (1), nach weiteren 22 h Capsaicinpflaster (2) und nach weiteren 24 h Ruhezeit nach dem zweiten Capsaicinpflaster (3). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ; gepaarter t-Test capsaicin- versus vehikelbehandelte Haut. Modifiziert aus Henrich et al. (2015); vgl. Tabelle 1.

Tabelle 1: Ergebnisse der Capsaicindesensitivierung

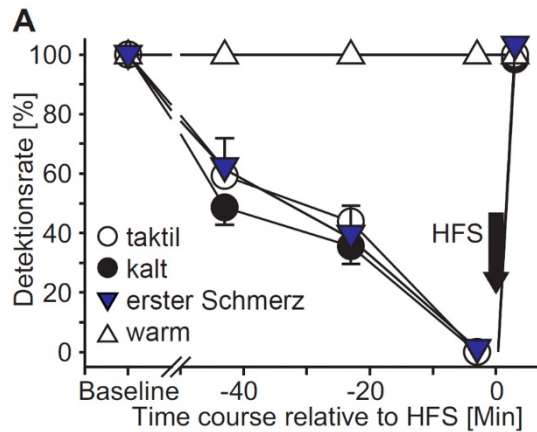
Parameter der Desensitivierung	Capsaicin behandelt			Vehikel behandelt			Signifikanzniveau
	Roh MW	Log MW	Log SEM	Roh MW	Log MW	Log SEM	
NRS für Laser, Tag1	17,8	1,252	± 0,143	17,3	1,241	± 0,145	n.s.
NRS für Laser, Tag2	0,0	-1,000	± 0,000	23,3	1,369	± 0,087	***
NRS für Laser, Tag3	0,0	-1,000	± 0,000	15,8	1,202	± 0,147	***
NRS für Laser, Tag4	0,0	-0,915	± 0,059	14,1	1,152	± 0,100	***
NRS für 50°C 6 Sek., Tag1	40,4	1,607	± 0,060	40,4	1,607	± 0,067	n.s.
NRS für 50°C 6 Sek., Tag2	1,0	0,052	± 0,278	41,1	1,615	± 0,061	**
NRS für 50°C 6 Sek., Tag3	0,3	-0,363	± 0,236	39,6	1,599	± 0,071	***
NRS für 50°C 6 Sek., Tag4	0,0	-0,919	± 0,081	38,9	1,591	± 0,070	***
	Roh MW	SEM		Roh MW	SEM		
°C für HPT, Tag1	45,8	± 0,6		45,5	± 0,5		n.s.
°C für HPT, Tag2	45,7	± 0,5		47,4	± 0,9		**
°C für HPT, Tag3	45,5	± 0,5		48,8	± 0,6		***
°C für HPT, Tag4	44,5	± 0,5		49,9	± 0,1		***

Anmerkungen: NRS Numerische Rating Skala, HPT Hitzeschmerzschwelle, SEM Standardfehlermittelwert, \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

Tabelle 2: Ergebnisse der A-Faserblockade im Hauptversuch

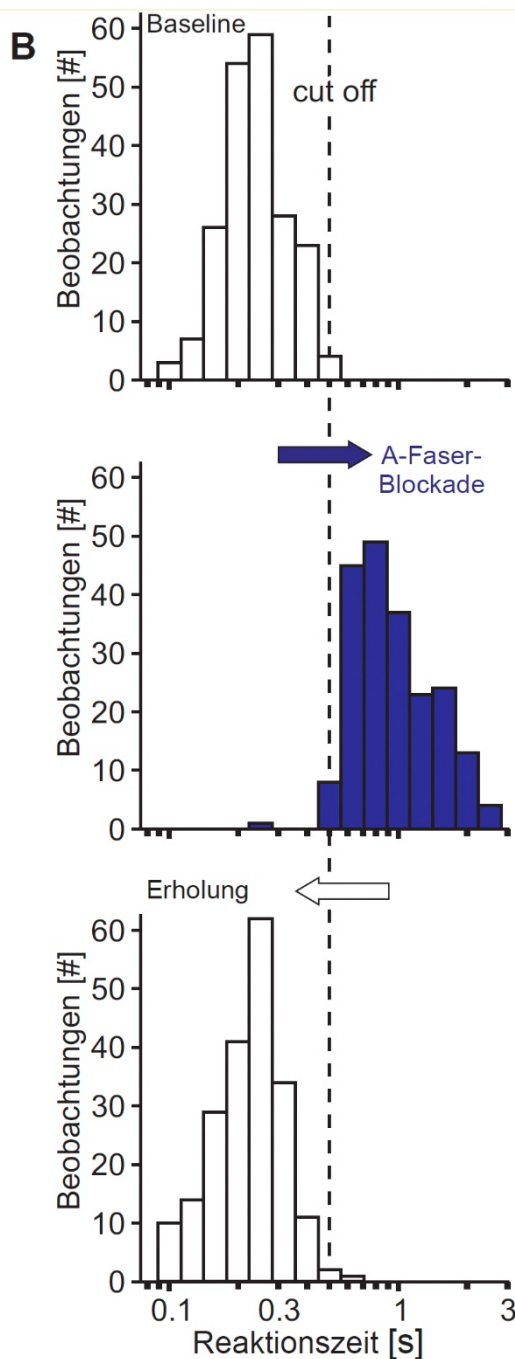
Zeitpunkt in Minuten	Taktile		Kalt		Reaktionszeit		Warm	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
0	100,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	± 0,0
30	69,6	± 9,6	55,0	± 8,9	78,8	± 7,9	100,0	± 0,0
50	40,8	± 11,8	30,0	± 9,7	46,6	± 10,5	100,0	± 0,0
70	13,8	± 8,4	6,7	± 5,1	29,8	± 8,9	100,0	± 0,0
90	0,4	± 0,4	3,3	± 3,3	11,5	± 6,2	100,0	± 0,0
110	0,0	± 0,0	0,0	± 0,0	4,2	± 3,0	100,0	± 0,0
120	100,0	± 0,0	98,3	± 1,7	101,9	± 2,0	100,0	± 0,0

Anmerkungen: Zum besseren Verständnis: zum Zeitpunkt 0 Minuten waren alle Detektionsraten der verschiedenen Qualitäten bei 100 % d.h. 100% des First Pain (Reaktionszeit) unter 500ms. Zum Zeitpunkt 110 Minuten, wurde nur noch Wärme zu 100% detektiert, die anderen Qualitäten nicht mehr bzw. die Reaktionszeit lag zu 95% über 500ms und war damit nicht mehr durch schnelle myelinisierte A-Fasern sondern nur noch durch langsame unmyelinisierte C-Fasern vermittelt.



**Abbildung 8: Ergebnisse Monitoring der A-Faserleitungsblockade**

(A) Überwachung von A-Faser-bezogenen sensorischen Parametern: taktile Detektion (offener Kreis), Kälteerkennung (gefüllter schwarzer Kreis) und Detektion des ersten Schmerzes (gefülltes blaues Dreieck), schnelle Reaktionszeit auf Pinprick (<500 ms) und von C-Faser-bezogenen sensorischen Parametern: Wärmedetektion (offenes Dreieck). Fehlerbalken zeigen den Standardfehler des Mittelwertes (SEM) an. Die Zeitskala der Abszisse bezieht sich auf den Zeitpunkt der voll entwickelten A-Faser-Blockade bei ca. 110 min, gefolgt von HFS unter vollständig etablierter A-Faserleitungsblockade. (B) Reaktionszeiten vor Beginn der A-Faser-Blockade (Baseline), bei voll entwickelter A-Faser-Blockade und 2 Min. nach der Erholung aus dem Block (Erholung). Entlehnt und modifiziert aus Henrich et al. (2015); vgl. Tabelle 2.





### 3.3 HFS-induzierter Schmerz

Die HFS-Schmerzratings wiesen unter allen Versuchsbedingungen einen gleichmäßigen Anstieg über die fünf Reizung auf (Abbildung 9). Im ersten Experiment (Capsaicin-desensibilisierung) begann der HFS-Schmerz bei vehikelbehandelter Haut mit einem mittleren NRS von 29,5/100 NRS und stieg auf 37,2/100 NRS an. Die Schmerzratings in capsaicinbehandelter Haut wurden deutlich reduziert: Sie begannen bei 14,5/100 NRS und stiegen auf 18,6/100 NRS. Der mittlere HFS-induzierte Schmerz in allen Reizungen der normalen Haut betrug 35,2 NRS ( $\log_{10}$ :  $1,547 \pm 0,076$ ). Er reduzierte sich in capsaicinbehandelter Haut um 53% auf 16,9 NRS ( $\log_{10}$ :  $1,227 \pm 0,101$ ;  $p < 0,001$ ). Die Zunahme der Schmerzratings über die fünf Reizwiederholungen der HFS-Reizung unterschied sich nicht zwischen vehikel- und capsaicinbehandelter Haut (Verhältnis:  $1,57 \pm 0,35$  (+26%) vs.  $2,12 \pm 0,76$  (+28%);  $p = 0,46$ ).

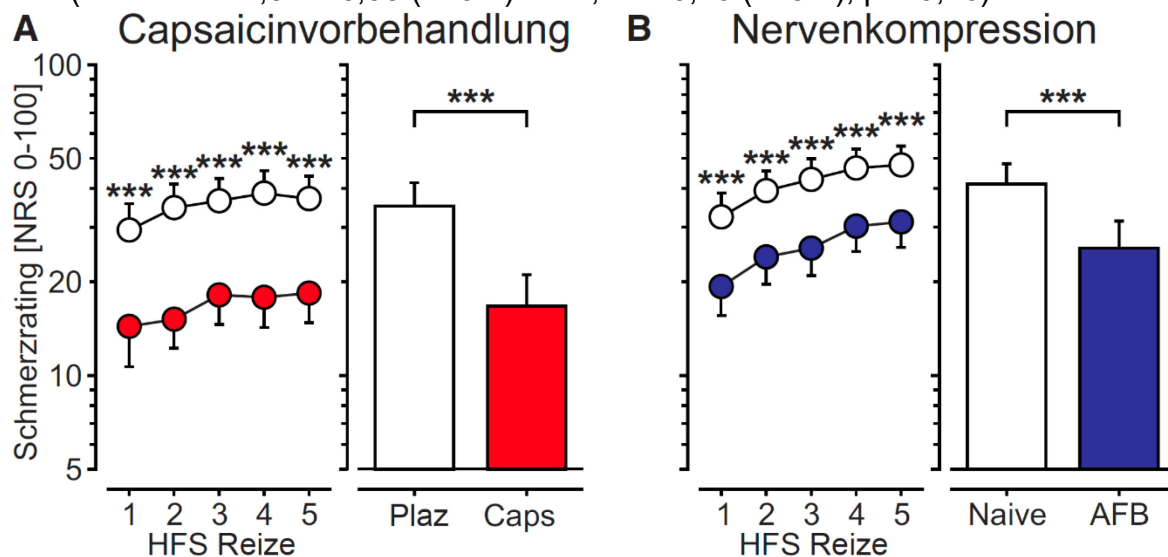


Abbildung 9: Schmerzbewertungen für HFS durch Epikutanelektroden

(A) Die HFS-Schmerzen bei capsaicinbehandelter Haut waren im Vergleich zur Vehikel-Haut ( $p < 0,001$ ) auf 47% reduziert. (B) Der HFS-Schmerz bei A-Faser-blockierter Haut wurde im Vergleich zu naiver Haut ( $p < 0,001$ ) signifikant um 37% reduziert. Geometrischer Mittelwert  $\pm$  SEM. Logarithmische Ordinate beachten.  $p < 0,001$  für die Behandlung gegenüber vehikelbehandelter oder naiver Haut; gepaarter  $t$ -Test. Rote Kreise / Balken kennzeichnen Capsaicinvorbehandlung (Caps); blaue Kreise / Balken kennzeichnen A-Faser-Blockade (AFB); offene Kreise / Balken kennzeichnen Vehikel behandelt (Veh) oder naiv. Entlehnt und modifiziert aus Henrich et al. (2015).

Im zweiten Experiment (A-Faserleitungsblockade) betrug der HFS-induzierte Schmerz in der naiven Haut des Handrückens bei der ersten Stimulation 32,4/100 und stieg sukzessive auf 47,5/100. Nach vollständiger und selektiver Blockade der A-Faserleitung waren die Schmerzratings auf 19,3/100 (erster Reiz) und 31,2/100 (fünfter Reiz) reduziert. Der mittlere HFS-induzierte Schmerz über alle Reizung in normaler Haut betrug 41,3 NRS ( $\log_{10}$ :  $1,616 \pm 0,066$ ) und wurde unter A-Faser-Leitungsblockade um 37% auf 25,7 NRS ( $\log_{10}$ :  $1,410 \pm 0,086$ ;  $p < 0,001$ ) reduziert. Die Zunahme der Schmerzen über Trains von HFS-Reizen unterschied sich nicht zwischen naiver Haut und Haut mit funktioneller A-Faser-Blockade (Verhältnis:  $1,53 \pm 0,10$  (47,5%) versus  $1,74 \pm 0,15$  (61,5%);  $p = 0,23$ ).

### 3.4 Homotope Schmerz-LTP

Die Schmerzratings für elektrische Reize am Ort der HFS-Stimulation (homotopes Testareal) waren durch HFS in der vehikelbehandelten Haut auf das 2,29-fache der Kontrollstelle erhöht (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,360 \pm 0,114$ ;  $p < 0,01$ ). Bei der mit dem Capsaicin vorbehandelten Haut (Abbildung 10A) war der Anstieg der homotopen Schmerz-LTP um 71% im Vergleich zum Ort der HFS-Stimulation in vehikelbehandelter Haut reduziert ( $p < 0,01$ ). Jedoch gab es immer noch einen signifikanten Schmerzanstieg auf das 1,38-fache der Kontrolle nach HFS (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,141 \pm 0,076$ ;  $p < 0,05$ ), aber zu keinem Zeitpunkt während der Baseline (alle mindestens  $p > 0,20$  für capsaicinbehandelte oder vehikelbehandelte Haut versus unkonditionierte Kontrolle, und für capsaicinbehandelte versus vehikelbehandelte Haut).

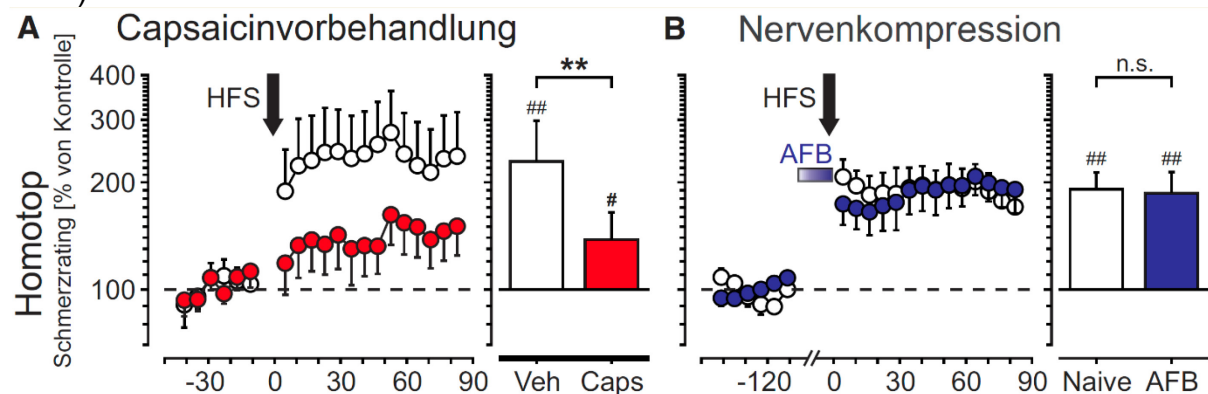


Abbildung 10: Homotope Schmerz-LTP für elektrische Reize (Zeitverläufe und durchschnittliche Größen).

(A) Homotope Schmerz-LTP in capsaicinbehandelter Haut wurde signifikant um 71% gegenüber Vehikel-behandelter Haut reduziert ( $p < 0,01$ ). Die verbleibende homotope Schmerz-LTP bei capsaicinbehandelter Haut war signifikant im Vergleich zur unkonditionierten Kontrolle ( $p < 0,05$ ). (B) Homotope Schmerz-LTP in der A-Faser-blockierten (AFB) Haut wurde nur geringfügig um 5% gegenüber der naiven Haut (n.s.) reduziert. Homotope Schmerz-LTP war in der A-Faser-blockierten Haut signifikant im Vergleich zur unkonditionierten Kontrolle ( $p < 0,01$ ). Daten normalisiert auf Baseline und Ort der unkonditionierten Kontrolle; gleitende Mittelwerte über drei Datenpunkte. \*\*  $p < 0,01$ , gepaarter t-Test für capsaicinbehandelte Haut oder A-Faser-geblockte Haut versus vehikelbehandelte oder naive Haut. #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$ , gepaarter t-Test für Capsaicin oder A-Faser-Blockade versus unkonditionierte Kontrolle. Rote Kreise / Balken kennzeichnen die Capsaicinvorbehandlung (Caps); blaue Kreise kennzeichnen die A-Faser-Blockade (AFB); offene Kreise / Balken kennzeichnen das behandelte Vehikel (Veh) oder naive. Entlehnt und modifiziert aus Henrich et al. (2015).

Im Gegensatz zum Capsaicinexperiment blieb die A-Faser-Leitungsblockade beim HFS-induzierten homotopen Schmerz-LTP nahezu unverändert (Abbildung 10B). Die Schmerzratings für elektrische Reize nach HFS bei naiver Haut stiegen auf das 1,91-fache der Kontrolle (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,281 \pm 0,048$ ,  $p < 0,001$ ). Die Schmerzratings für elektrische Reize in der Haut unter A-Faser-Blockade stiegen auf das 1,86-fache der Kontrolle (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,270 \pm 0,059$ ,  $p < 0,001$ ). Unterschiede in der Schmerzbewertung zu elektrischen Reizen nach HFS (A-Faser blockierte Haut versus normaler innervierter Haut) waren nur ~5% und waren nicht signifikant ( $p = 0,78$ ).

### 3.5 Heterotope Schmerz-LTP

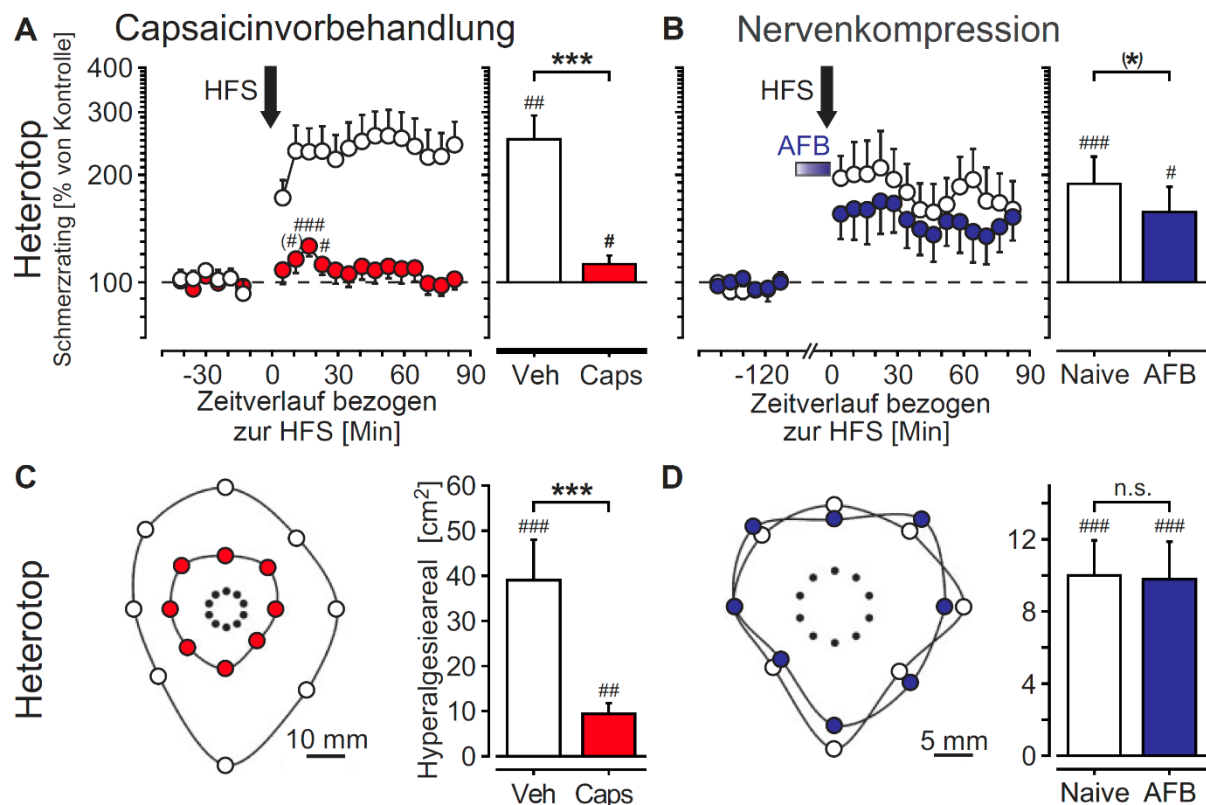


Abbildung 11: heterotope Schmerz-LTP für Pinprickreize (Zeitverläufe und durchschnittliche Größen).

(A) Eine heterotope Schmerzsensitivierung war mit HFS bei capsaicinbehandelter Haut im Vergleich zu vehikelbehandelter Haut fast unmöglich (Reduktion von 92%). Die Zunahme der Schmerzen in der capsaicinbehandelten Haut (13%) war gegenüber der Kontrolle nur bis 30 Minuten nach HFS signifikant, und könnte auf eine TRPV1-negative Faser-vermittelte kurzfristige Potenzierung (STP) hinweisen. (B) Die sekundäre Hyperalgesie bei A-Faser-blockierter Haut wurde im Vergleich zur naiven Haut um 35% reduziert ( $p = 0,059$ ). Die sekundäre Hyperalgesie war signifikant gegenüber der unconditionierten Kontrolle ( $p < 0,001$ ) und der A-Faser-blockierten Haut ( $p < 0,05$ ). (C) Der Bereich der sekundären Hyperalgesie nach HFS bei capsaicinbehandelter Haut des ventralen Unterarms war im Vergleich zu HFS bei vehikelbehandelter Haut stark vermindert. (D) Der Bereich der sekundären Hyperalgesie nach HFS bei A-Faser-blockierter Haut des Handrückens unterschied sich nicht von der naiven Haut. Geometrischer Mittelwert  $\pm$  SEM. Daten normalisiert auf Baseline und Ort der unconditionierten Kontrolle; gleitende Mittelwerte über drei Datenpunkte. (\*)  $p = 0,059$ , \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , und \*\*\*  $p < 0,001$ , gepaarter t-Test für capsaicinbehandelte Haut oder A-Faser-geblockte Haut versus vehikelbehandelte oder naive Haut. (#)  $p = 0,058$ , #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$  und ###  $p < 0,001$ , gepaarter t-Test für Capsaicin oder A-Faser-Blockade versus unconditionierte Kontrolle. Rote Kreise / Balken kennzeichnen die Capsaicinvorbehandlung (Caps); blaue Kreise kennzeichnen die A-Faser-Blockade (AFB); offene Kreise / Balken kennzeichnen das behandelte Vehikel (Veh) oder naive. Entlehnt und modifiziert aus Henrich et al. (2015).

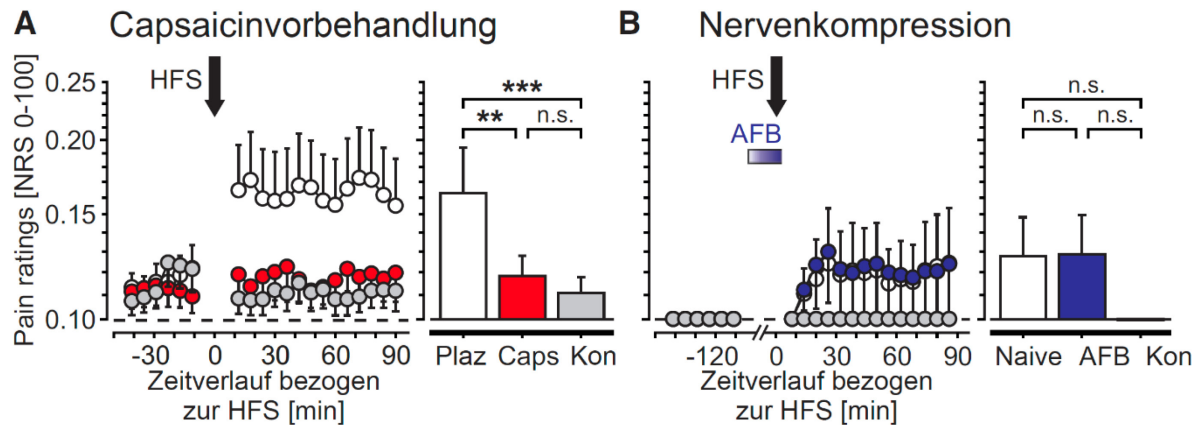
Die Schmerzbewertungen für Pinprick (Abbildung 11A), um die Stelle der HFS-Stimulation in der vehikelbehandelten Haut, stiegen im ersten Experiment auf das 2,19-fache der Kontrolle (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,342 \pm 0,062$ ,  $p < 0,001$ ). Die Schmerzbewertungen für Pinprickreize um die Stelle der HFS-Stimulation in capsaicindesensibilisierten Haut (Abbildung 11A) stiegen auf das nur 1,11-fache der Kontrolle (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,050 \pm 0,020$ ,  $p < 0,05$  versus Kontrolle), und die Größe war um 92% im Vergleich zum Vehikelareal reduziert ( $p < 0,01$ ). Außerdem war die Zunahme der Schmerzbewertungen zu den Pinprickreizen in der capsaicindesensitivierten Haut nur vom zweiten zum vierten Meßzeitpunkt nach HFS-Stimulation signifikant (1.18-fach,  $p = 0,058$ ; 1.28-fach  $p < 0,001$ ; 1.14-fach  $p < 0,05$ ) was eher auf das Phänomen kurzfristiger Verstärkung (STP) als auf langfristige Verstärkung hindeutet. Außerdem wurde der Bereich der sekundären Hyperalgesie zum Ort der Stimulation am ventralen Unterarm um 76% von  $39,0 \pm 8,9 \text{ cm}^2$  auf  $9,3 \pm 2,4 \text{ cm}^2$  reduziert ( $p < 0,001$ ; Abbildung 11C).

Im zweiten Experiment wurden die Schmerzbewertungen in normaler Haut nach HFS auf das 1,80-fache der Kontrolle erhöht (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,255 \pm 0,070$ ,  $p < 0,001$  im Vergleich zum Ausgangswert). Die Schmerzratings für Pinprickreize in der A-Faser blockierten Haut (Abbildung 11B) stiegen auf das 1,52-fache der Kontrolle (Mittelwert  $\Delta\log$ :  $+0,180 \pm 0,065$ ,  $p < 0,05$  gegenüber dem Ausgangswert). Die Reduktion der HFS-induzierten heterotopen Schmerz-LTP um 35% war von marginaler Bedeutung ( $p = 0,059$ , naive versus A-Faser blockierte Haut). Der Bereich der sekundären Hyperalgesie bis zum Pinprick, der auf dem Handrücken viel kleiner war, blieb dagegen unvermindert ( $10,0 \pm 1,9 \text{ cm}^2$  bis  $9,8 \pm 2,1 \text{ cm}^2$ ;  $p = 0,88$ ; Abbildung 11D).

### 3.6 Dynamisch-mechanische Allodynie

Nach HFS in normaler Haut empfanden die meisten Probanden (16/20 NRS) einige der leichten taktilen Berührungen neben der HFS-Stelle am Unterarm als leicht schmerzhaft (dynamische mechanische Allodynie, Abbildung 12). Dementsprechend stiegen nach HFS die Schmerzen bei dynamischen, leichten taktilen Reizen im Vergleich zu den Schmerzbewertungen in der normalen Haut der unkonditionierten Kontrollstelle signifikant an: Mittlere Schmerzbewertung 0,163;  $\log_{10}$ :  $-0,788 \pm 0,076$ ,  $p < 0,05$  versus unkonditionierte Kontrolle, Abbildung 12A). In capsaicindesensitiver Haut (Abbildung 12A) war DMA erheblich gegenüber Vehikel reduziert (-66%,  $p < 0,01$ ) nicht aber signifikant gegenüber unkonditionierter Kontrolle.

Im zweiten Experiment, bei dem Schmerz-LTP durch HFS auf dem Handrücken ausgelöst wurde, trat hier bei weniger Probanden (2/12) eine dynamische mechanische Allodynie auf. Dementsprechend waren die mittleren Werte niedrig: mittleres Schmerzrating: 0,116 ( $\log_{10}$ :  $-0,934 \pm 0,065$ ) und unterschieden sich nicht signifikant von unkonditionierter normaler Haut, bei keinem der Probanden eine Allodynie auftrat ( $p = 0,17$ ). Unter der Bedingung eines voll entwickelten Kompressionsblocks blieb die HFS-induzierte dynamische mechanische Allodynie bei diesen beiden Probanden völlig unverändert: Mittleres Schmerzrating: 0,118 ( $\log_{10}$ :  $0,928 \pm 0,066$ ,  $p = 0,15$  versus Kontrolle und  $p = 0,12$  versus HFS bei normaler Haut, Abbildung 12B).



**Abbildung 12: Dynamische mechanische Allodynie auf leichte Berührung**  
 Zeitverläufe und mittlere Größen. (A) DMA in capsaicinbehandelter Haut wurde signifikant um 66% gegenüber vehikelbehandelter Haut reduziert, und die verbleibende DMA war nicht signifikant gegenüber einer unkonditionierten Kontrolle. (B) DMA war bei A-Faser-geblockten und naiver Haut identisch (nicht signifikant, da nur 2/12 Probanden eine dynamische mechanische Allodynie aufwiesen). Geometrischer Mittelwert  $\pm$  SEM. Man beachte die logarithmische Ordinate. Aufgrund der nichtlinearen Datentransformation entspricht eine Schmerzbewertung von 0,10 [log10: -1,00] bei allen Probanden einer Schmerzbewertung von 0. Alle Abbildungen zeigen gleitende Mittelwerte über drei Datenpunkte. Alle Statistiken sind gepaarte t-Tests. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ . Rote Kreise / Balken kennzeichnen die Capsaicinvorbehandlung, blaue Kreise / Balken die A-Faser-Blockade (AFB), graue Kreise / Balken die Kontrollstelle (Kon), offene Kreise vehikelbehandelte (Veh) oder naive Haut. n.s. = nicht signifikant. Entlehnt und modifiziert aus Henrich et al. (2015).

Tabelle 3; Ergebnisse der Hyperalgesieinduktion auf verschiedene Parameter

	Capsaicin behandelt				Signifi- kantz- niveau	Vehikel behandelt					
	Roh MW	Log MW	Log SEM	Roh MW		Log MW	Log SEM	Roh MW	Log MW	Log SEM	
HFS Schmerz (NRS)	17	1,223	± 0,102	***	35	1,545	± 0,076				
homotope Schmerz-LTP (in %)	+38%	0,141	± 0,076	**	+129%	0,360	± 0,114				
homotope Schmerz-STP (in %)	+28%	0,107	± 0,027								
heterotope Schmerz-LTP (in %)	+11%	0,047	± 0,022	***	+134%	0,370	± 0,062				
Allodynie (NRS)	1,2	0,073	± 0,034	***	1,6	0,212	± 0,076	1,1	0,045	± 0,026	
Hyperalgesieareal (in cm^2)	9,3			***	39,0						
	A-Faserblockade					Naive					
HFS Schmerz (NRS)	26	1,410	± 0,086	***	41	1,616	± 0,066				
homotope Schmerz-LTP (in %)	+86%	0,270	± 0,060	n.s.	+91%	0,281	± 0,048				
heterotope Schmerz-LTP (in %)	+52%	0,181	± 0,065	(*)	+80%	0,255	± 0,070				
Allodynie (NRS)	1,2	0,072	± 0,066	n.s.	1,2	0,066	± 0,065	1,0	0,000	± 0,000	
Hyperalgesieareal (in cm^2)	9,8			n.s.	10,0						

Anmerkungen: HFS Hochfrequenze Stromstimulation, NRS Numerische Ratingsskala 0-100, LTP Langzeitpotentierung, STP Kurzzeitpotentierung, SEM Standardfehlermittelwert

### 3.7 Kalkulation der primären afferenten Fasertypen

Die beiden Experimente liefern Informationen über den relativen Beitrag von TRPV1-positiven und TRPV1-negativen Fasern sowie von C- und A-Fasern bei der Auslösung für den HFS-Schmerz, homotopen Schmerz-LTP und der heterotopen Schmerz-LTP. Die beobachteten prozentualen Abnahmen können als prozentualen Beitrag des Fasertyps, dessen Funktion selektiv unterbunden wurde bzw. die verbliebene prozentuale Veränderung gegenüber der Kontrolle als Beitrag der nicht blockierten Fasertypen verstanden werden. Die Prozentsätze entsprechen den Zeilen- oder Spaltensummen in 2 × 2 Tabellen für die oben genannten Schmerz bzw. Schmerzplastizitätsmaße (Tabelle 4). Die errechneten Summen stimmen jedoch mit vielen verschiedenen Kombinationen der einzelnen Prozentsätze in diesen 2 × 2 Tabellen überein. Tabelle 4 zeigt daher zwei mögliche Lösungen, eine mit dem maximalen Beitrag von TRPV1-positiven C-Fasern (A) und eine andere mit ihrem minimalen Beitrag (B), woraus ein Intervall geschätzt werden kann (C). Bei induziertem HFS-Schmerz sind diese Bereiche breit und alle vier Fasertypen trugen potenziell zur Ausbildung des HFS-reduzierten Schmerzes bei. Für homotope Schmerz-LTP unterstützt diese Abschätzung die Annahme, dass nur C-Fasern (TRPV1-positiv und TRPV1-negativ) zu seiner Induktion beigetragen haben. Für heterotope Schmerz-LTP deuten die Daten darauf hin, dass nur TRPV1-positive primäre Afferenzen (A- und C-Fasern) zu ihrer Induktion beigetragen haben.

**Tabelle 4: Geschätzte Prozentsätze der Beiträge des Fasertyps zu den wahrgenommenen Schmerzratings**

	Fasertyp	HFS-Schmerz			homotope Schmerz-LTP			heterotope Schmerz-LTP		
		C	A	$\Sigma$	C	A	$\Sigma$	C	A	$\Sigma$
<b>A</b>	TRPV1-pos	53	0	53	71	0	71	65	27	92
	TRPV1-neg	10	37	47	24	5	29	0	8	8
	Summe	63	37	100	95	5	100	65	35	100
<b>B</b>	TRPV1-pos	16	37	53	66	5	71	57	35	92
	TRPV1-neg	47	0	47	29	0	29	8	0	8
	Summe	63	37	100	95	5	100	65	35	100
<b>C</b>	TRPV1-pos C	<b>16-53</b>			<b>66-71</b>			<b>57-65</b>		
	TRPV1-neg C	<b>10-47</b>			<b>24-29</b>			0-8		
	TRPV1-pos A	<b>0-37</b>			0-5			<b>27-35</b>		
	TRPV1-neg A	<b>0-37</b>			0-5			0-8		

Anmerkungen: A und B Die mittleren Prozentsätze aus Abbildung 9, Abbildung 10 und Abbildung 11 führten zu den Zeilensummenprozenten (aus Versuch 1) und Spaltensummenprozenten (aus Versuch 2) in diesen 2 × 2 Tabellen. Einzelne Zellprozentsätze sind mehrdeutig, aber sobald eine Zelle bekannt ist, können die anderen genau berechnet werden. HFS-Schmerz: Der niedrigste Anteil (37%) wird durch A-Fasern verursacht, die alle TRPV1-negativ (A) oder alle TRPV1-positiv (B) oder irgendwo dazwischen sein können. Homotope LTP: Der niedrigste Beitrag (5%) wird durch A-Fasern erreicht, die alle TRPV1-negativ (A) oder alle TRPV1-positiv (B) oder dazwischen sein können. Heterotope LTP: Der niedrigste Anteil (8%) wird durch TRPV1-negative Fasern erreicht, die alle A-Fasern (A) oder alle C-Fasern (B) oder dazwischen sein können. (C) Schätzung des Intervalls aus den Teilen A und B zeigen, welche Fasern signifikant (als Fettdruck markiert) und für welche Faserklassen ein Beitrag zu den untersuchten Phänomenen nicht gesichert werden kann. Entlehnt, korrigiert und modifiziert aus Henrich et al. (2015).

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Kurzfassung der wesentlichen Befunde

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war, die relativen Beiträge von A $\delta$ -Faser versus C-Faser-Nozizeptoren sowie TRPV1-positiven versus TRPV1-negativen Nozizeptor-Subpopulationen für die Induktion von Schmerz-LTP zu unterscheiden. Hierzu wurden hochfrequente elektrische Reize als Methode zur Induktion der Hyperalgesie eingesetzt, da diese alle peripheren Nervenfasern unspezifisch aktivieren. Als Methoden zur Elimination wurden zwei selektive Nervenblockaden (Capsaicindesensibilisierung und A-Faserleitungsblockade) beim Menschen miteinander kombiniert. Die Analyse der homotopen Schmerz-LTP bestätigte einen signifikanten Beitrag von C-Faser Nozizeptoren sowie die Hypothese einer Autofazilitierung des TRPV1-positiven C-Fasereingangs (Hansen et al., 2007; Ikeda et al., 2006). Es zeigte sich aber auch eine signifikante Autofazilitation des TRPV1-negativen C-Fasereingangs. Dies ist ein neuer Befund, der in der Elektrophysiologie des Hinterhorns noch nicht beschrieben wurde. Darüber hinaus deutete die Analyse der heterotopen Schmerz-LTP darauf hin, dass LTP infolge eines synaptischen Anstiegs von TRPV1-positiven C-Fasern eine sekundäre Hyperalgesie für Pinprick-Stimuli erzeugt. Dies erfordert eine Interaktion von mindestens zwei verschiedenen Pfaden (Torsney, 2011), da Pinprick-induzierter Schmerz überwiegend durch TRPV1-negative A-Faser-Nozizeptoren vermittelt wird (W. Magerl et al., 2001; Ziegler et al., 1999). Darüber hinaus trug vermutlich nicht nur synaptischer Input durch TRPV1-positive C-Fasern, sondern auch TRPV1-positive A-Fasereingaben zur Induktion von heterotoper Schmerz-LTP bei. Auch dieser Befund der Studie war vorher nicht bekannt. Nach der Capsaicindesensibilisierung wurde keine sekundäre Hyperalgesie nach HFS gefunden. Dementsprechend tragen TRPV1-negative A- und C-Faser-Nozizeptoren nicht zu ihrer Induktion bei.

### 4.2 HFS-aktivierte Faserpopulationen

In Übereinstimmung mit der unspezifischen Aktivierung der intraepidermalen Nervenfasern durch epikutane elektrische Reize schienen alle Nozizeptoren zum HFS-induzierten Schmerz beizutragen. Die Reduktion nach Capsaicindesensibilisierung legt nahe, dass TRPV1-positive und TRPV1-negative Fasern etwa gleich viel beitrugen. Unter den Bedingungen der beiden Leitungsblockaden waren die berichteten Schmerzratings signifikant geringer.

Konventionelle transkutane elektrische Stimulation von Nervenfaserpolygonen aktiviert bevorzugt A $\beta$ -Fasern. Dagegen erregen intraepidermale Elektroden mit großflächigen Elektroden bei niedrigen Intensitäten überwiegend A $\delta$  Fasern (ca. 2 $\times$  Schwelle; Mouraux, Iannetti, und Plaghki (2010); Inui und Kakigi (2012)). Die in dieser Arbeit eingesetzten 10-Pin Reizelektroden sind noch deutlich selektiver: Die epikutane 10-Pinelektrode aktiviert peptiderge C-Faser-Afferenzen in der Haut, da sie neurogene Entzündungen (Thomas Klein et al., 2004) und brennende Schmerzen hervorruft (Hansen et al., 2007).

Der überwiegende Teil der peripheren Nervenfasern sind unmyelinisierte C-Fasern (72-81%; Ochoa und Mair (1969); Schmalbruch (1986); Heppelmann, Heuss, und Schmidt (1988); Hines, Birn, Teglbjaerg, und Sinkjaer (1996)). Unter den verbleibenden myelinisierten Afferenzen sind ~70-~80% dünn myelinisierte A $\delta$ -Fasern



(Heppelmann et al., 1988; Ochoa & Mair, 1969). Somit kann in Hautnerven prozentual von einem Verhältnis der Axone von Hautnerven zwischen C-, A $\delta$ - und A $\beta$ -Fasern von ca. ~80% zu ~15% zu ~5% ausgegangen werden. Der größte Teil der C- und A $\delta$ -Fasern ist nozizeptiv, ein geringer Anteil sind taktile Afferenzen oder nichtnozizeptive Thermorezeptoren (Adriaensen et al., 1983; Campero & Bostock, 2010; R. D. Treede, Meyer, & Campbell, 1998; Vallbo, Olausson, & Wessberg, 1999). In Anbetracht der prozentualen Nervenfaserteile kann daher davon ausgegangen werden, dass bei der Vermittlung von HFS-induziertem Schmerz unter den unterschiedlichen Populationen die peripheren C-Nozizeptoren überwiegen. Andererseits muss in Betracht gezogen werden, dass die in den Experimenten verwendete Stimulusfrequenz (100 Hz) die A-Faser-Aktivierung begünstigt, da diese der Hochfrequenzstimulation besser folgen kann als C-Nozizeptoren, weil diese schneller ermüden (Jonas et al., 2018; Raymond, Thalhammer, Popitz-Bergez, & Strichartz, 1990; Serra et al., 2012; Weidner et al., 1999). In den Daten der Arbeit war das Verhältnis von C zu A $\delta$ -Nozizeptor Vermittlung von Schmerz ~2:1, während die Faserzahlverhältnisse 5:1 waren. Dieser Unterschied unterstützt die Annahme, dass A-Fasern überproportional zur Wahrnehmung beitragen können (Bromm & Treede, 1983; Cruccu et al., 2003; W. Magerl, Ali, Ellrich, Meyer, & Treede, 1999). Die besseren Frequenzfolgeigenschaften von A-Faser-Nozizeptoren könnten also möglicherweise die A-Faser-Komponente im Vergleich zur C-Faser-Komponente an der Wahrnehmung deutlich vergrößern.

#### 4.3 Nozizeptoren, die zur homotopen Schmerz-LTP beitragen

Die selektive A-Faser-Leitungsblockade hatte keinen Einfluss auf die homotope Schmerz-LTP. Dies deutet darauf hin, dass eine hochfrequente Stimulation mit 100Hz in C-Fasern ausreicht, um diese Art der Schmerzsensitivierung zu induzieren. Dies steht im Einklang mit Daten aus Rattenrückenmarksscheibenpräparaten, bei denen die Rekrutierung von C-Fasern für die Induktion von nozizeptiver LTP obligatorisch war (Sandkühler, 2007). LTP in Lamina-I-Neuronen, die durch HFS von C-Fasern induziert wird, hängt von der Koaktivierung von NMDA-Rezeptoren durch Glutamat und Neurokinin-1-Rezeptoren (NK1-R) ab (Heinke, Balzer, & Sandkuhler, 2004; Ikeda, Heinke, Ruscheweyh, & Sandkühler, 2003; Naka, Gruber-Schoffnegger, & Sandkühler, 2013). Substanz P, welches am Neurokinin 1-Rezeptor (NK1-R) in den oberflächlichen Laminae des Hinterhorns der Ratte bindet, ist auch für die Capsaicin-vermittelte, zentrale Sensibilisierung durch Aktivierung von TRPV1-positiven Afferenzen essentiell (Khasabov et al., 2002; Nichols et al., 1999; Rygh et al., 2006; Vierck, Kline, & Wiley, 2003). Weil die Mehrzahl der peptidergen Nervenfasern TRPV1 exprimieren, kann angenommen werden, dass in der Studie diese Neurone durch Capsaicinexposition eliminiert wurden. So wie bei der Ratte, beruht die Induktion von spinaler LTP beim Menschen hauptsächlich auf peptidergen neuronalen Signalen im Hinterhorn, was darauf hindeutet, dass TRPV1-positive Afferenzen und spinale NK1-Rezeptoren signifikant zur Induktion von chronischen Schmerzzuständen beim Menschen beitragen.

Homotope Schmerz-LTP wurde auch über Fasern induziert, die TRPV1 nicht exprimieren, da nach der Capsaicinbehandlung signifikante Schmerz-LTP auftrat. Hierfür können drei Erklärungen für dieses Phänomen herangezogen werden:

1. LTP könnte über Substanz P-haltige, TRPV1-negative Fasern über den bekannten Neurokininweg induziert werden. Hinweise hierauf ergaben sich anhand einer tierexperimentellen Arbeit, bei der in Ratten eine kleine Population (15-23%) von Substanz P-positiven Nozizeptoren nachgewiesen werden konnte, die TRPV1 nicht exprimiert (Guo et al., 1999; Tominaga et al., 1998). Hierdurch könnte Substanz P-vermittelte LTP auch nach der Capsaicindesensibilisierung induziert werden. Dieses Ergebnis wurde jedoch in jüngster Zeit nicht repliziert.
2. Tierexperimentelle Daten deuten darauf hin, dass die Induktion von LTP zumindest teilweise unabhängig von der NK1-Rezeptorübertragung sein kann. So konnte gezeigt werden, dass ‚Brain-derived neurotrophic factor‘ (BDNF) in nicht-peptidergen C-Faser-Neuronen bei Ratten zur Entwicklung von spinaler LTP beitragen kann (L.-J. Zhou et al., 2008; L. J. Zhou et al., 2011). Somit kann die BDNF-Freisetzung eine Alternative zur Substanz P-Freisetzung für die Induktion von homotoper spinaler LTP sein (Ren & Dubner, 2007).
3. Abgesehen von den beiden oben genannten Erklärungsmodellen ist zu bedenken, dass sich die psychophysikalischen Befunde zumindest zum Teil auch durch supraspinale Mechanismen erklären ließen, im Sinne einer absteigenden Fazilitation oder verminderten absteigenden Hemmung (Pertovaara (1998); Urban und Gebhart (1999)).

#### 4.4 Nozizeptoren, die zur heterotopen Schmerz-LTP beitragen

Eines der psychophysischen Korrelate von spinaler LTP, die sogenannte sekundäre Hyperalgesie - kann sowohl durch HFS als auch durch Applikation des TRPV1-Agonisten Capsaicin induziert werden. Dies weist darauf hin, dass TRPV1-exprimierende Nozizeptoren zumindest teilweise zur Induktion dieser Art von Schmerzsensitivierung beitragen (Ikeda, Heinke, Ruscheweyh, & Sandkühler, 2003; Ikeda, Kusudo, Ryu, & Murase, 2003; Ikeda et al., 2006; LaMotte, Shain, Simone, & Tsai, 1991; W. Magerl et al., 2001; Simone, Baumann, & LaMotte, 1989; Ziegler et al., 1999). Das Fehlen einer signifikanten heterotopen Schmerz-LTP in capsaicinbehandelter Haut legt nahe, dass TRPV1-exprimierende Nozizeptoren für diese Art der Schmerzsensitivierung essentiell sind. Es zeigte sich jedoch auch eine sehr kurzandauernde (<30 min) Potenzierung von Schmerz auf Pinprickreize nach HFS in der capsaicindesensibilisierten Haut. Dieser Befund könnte darauf hindeuten, dass TRPV1-negative Fasern eine kurzfristige Schmerzpotenzierung auslösen können (Schmerz-STP; Shyu und Vogt (2009); Rahn, Guzman-Karlsson, und David Sweatt (2013)).

In einer früheren Studie (Ziegler et al., 1999) blieb das Ausmaß der sekundären Hyperalgesie unverändert, als Capsaicin unter selektiver A-Faser-Leitungsblockade injiziert wurde. Dies wurde als Fehlen eines möglichen Beitrags von A $\delta$ -Fasernozizeptoren zur Induktion der Schmerzsensitivierung an zentralen nozizeptiven Neuronen interpretiert. Die relative Rolle der A-Faser-Nozizeptoren wurde jedoch im Capsaicininjektionsmodell durch ihre geringere Empfindlichkeit gegenüber Capsaicin vermutlich unterschätzt (S. N. Lawson et al., 2002; S. N. Lawson et al., 1997; Ringkamp et al., 2001; Szolcsanyi, 1987). Im elektrischen HFS-Modell dieser Studie zeigte der komplette Block durch Capsaicindesensibilisierung und ein moderater Rückgang um 35% durch A-Faser-Leitungsblockade, dass TRPV1-tragende A $\delta$ -Fasernozizeptoren (AMH II polymodale Nozizeptoren) wesentlich zur Induktion von heterotopen Schmerz-LTP beitragen. Daraus kann geschlossen werden, dass

heterotope Schmerz-LTP (sekundäre Hyperalgesie) insgesamt durch TRPV1-positive A- und C-Fasernozizeptoren ausgelöst wird, nicht aber durch TRPV1-negative Nozizeptoren.

Bisher wenig bekannt ist der Beitrag supraspinaler, schmerzmodulierender Zentren für das Phänomen der sekundären Hyperalgesie. Bisher unveröffentlichte Befunde aus dem Lehrstuhl für Neurophysiologie der Medizinischen Fakultät Mannheim deuten darauf hin, dass bei Patienten, bei denen das endogene Schmerzabwehrsystem aufgrund eines gestörten Transmittergleichgewichts kompromittiert ist, das Ausmaß der sekundären Hyperalgesie für Pinprickreize im Vergleich zu Gesunden gesteigert ist, während sich die beiden Gruppen nicht bezüglich der Größe des Hyperalgesie-Areals unterscheiden. Im Rahmen der von mir durchgeführten Experimente wurde eine Beteiligung supraspinaler Zentren nicht explizit untersucht. Daher sollte in Folgeexperimenten die Rolle des endogenen schmerzmodulierenden Systems weiter untersucht werden.

#### **4.5 Beitrag der Nervenfasersubtypen zur Entstehung von LTP-induzierter dynamisch-mechanischer Allodynie**

Die dynamische mechanische Allodynie (Schmerz durch leichte Berührung) ist ein eigenständiges Phänomen, das im Rahmen der LTP-Induktion nachgewiesen werden kann. In meinen Experimenten trat DMA nicht auf, als HFS bei capsaicindesensitiver Haut durchgeführt wurde. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Induktion der Allodynie vollständig von TRPV1-positiven Nozizeptoren abhängt. Das sehr geringe Auftreten der dynamischen mechanischen Allodynie im zweiten Experiment (A-Faserblockade) (Thomas Klein et al., 2004; Lang et al., 2007; Ziegler et al., 1999) verhinderte Rückschlüsse auf den möglichen Beitrag von A $\delta$ -Nozizeptoren zu deren Induktion.

#### **4.6 Modellentwurf anhand der eigenen Befunde**

W. Magerl und Klein (2006) entwickelten ein Modell (Abbildung 13), das im Wesentlichen die Rolle verschiedene Fasertypen für die Entstehung von Hyperalgesie und Allodynie im Menschen beschreibt: Ein noxischer Reiz, wie z.B. eine Verletzung, aktiviert Capsaicin-sensitive C-Fasern, die auf zentrale, schmerzspezifische Interneurone im Hinterhorn (CPSN: zentrale, schmerzspezifische spinale Interneurone) projizieren und diese sensibilisieren (W. Magerl und Klein (2006), wodurch mechanische Reize wie leichte Berührung und mechanische schmerzhafte Reize gesteigert weitergeleitet werden. In diesem Servo-Modell ist betont, dass Capsaicin-sensitive C-Fasern zwar sekundär fasilitieren, aber nicht sich selbst, um eine Eskalation des Systems zu vermeiden.

Die wesentlichen eigenen Befunde (Tabelle 4) dieser Arbeit wurden kurzgefasst in Tabelle 5 dargestellt und das Modell von Magerl und Klein (2006) erweitert (vgl. Abbildung 14).

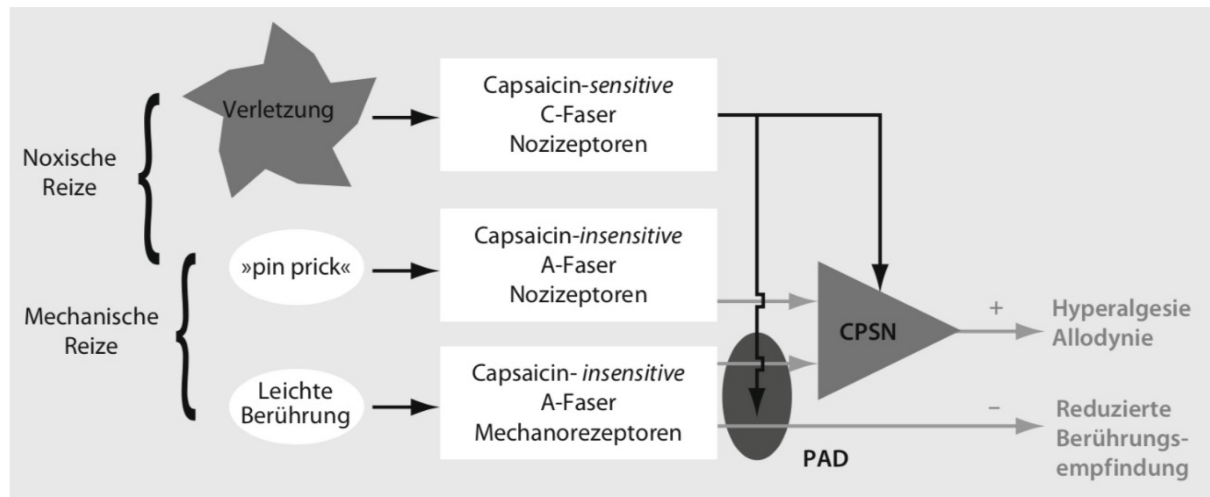


Abbildung 13: Modell der Servoregulation der synaptischen Übertragung des Menschen.

Erklärung siehe Text; PAD primär afferente Depolarisation, CPSN Central pain signaling neuron (entnommen aus W. Magerl, Treede RD, 2011)

Tabelle 5: Beiträge verschiedener Fasertypen zur Schmerz-LTP

Stimulation	Ausgangspfad						Pinzel/Q-Tip/CW
	EPS	Pinprick					
	Homosynap.	Heterosynap.					
Eingangspfad	Autofazilitation	Aδpos	Cpos	Aδneg	Cneg	Aβ	
Aδpos ->	-	-	-	+(+)LTP	-	-	
<b>Cpos -&gt;</b>	+++LTP	-(1)	-	+++LTP	-	++LTP	
Aδneg ->	-	++ STP	-	-	-	-	
Cneg ->	+++LTP	++ STP, (+)LTP	-	-	-	-	

Anmerkungen: - kein Beitrag; (?) unklar; +++ signifikanter und substanzieller Beitrag, (+) signifikanter aber nicht substanzieller Beitrag; Zum Verständnis: Eingangspfade (erste Spalte) und deren Auswirkungen auf die Ausgangspfade; (restliche Zeilen) (1) eigene Daten; (2) Lang et al. (2007) zeigten dass im Areal sekundärer Hyperalgesie keine Hitzehyperalgesie auftritt.

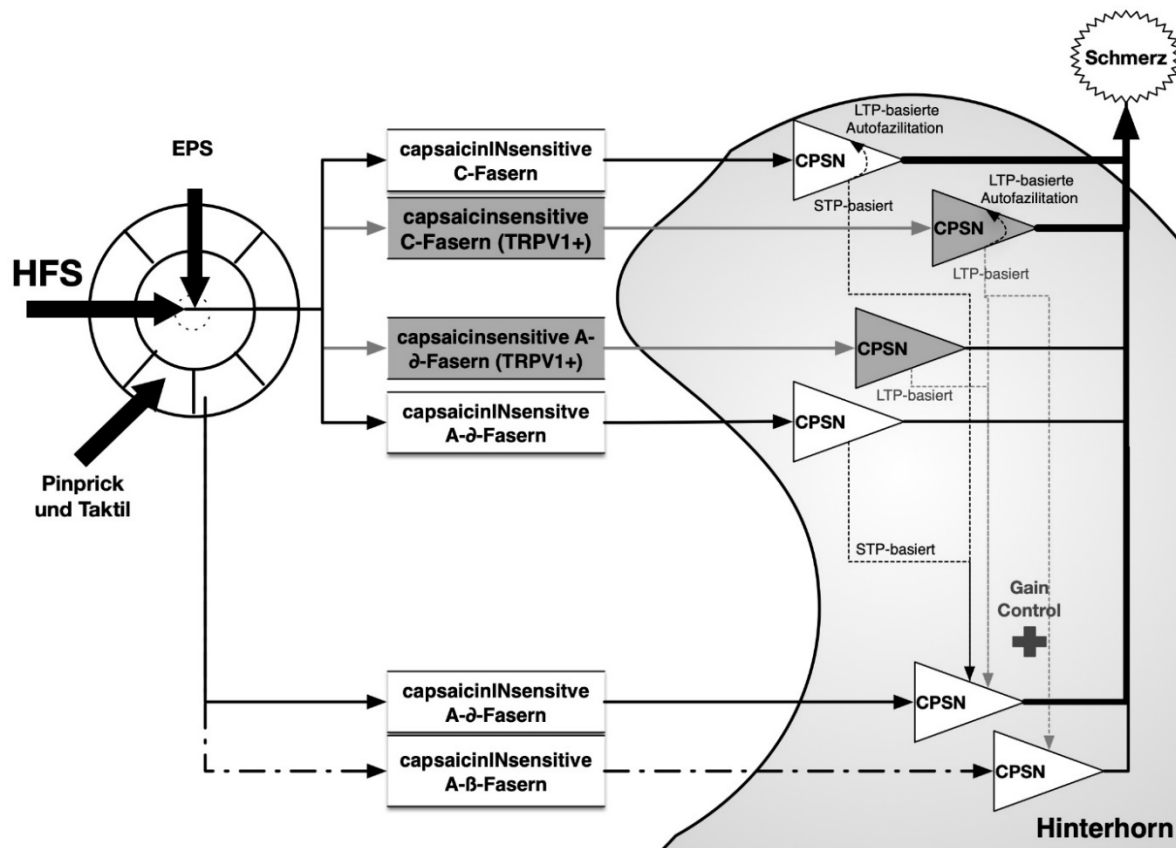


Abbildung 14: Entwurf eines Gain-Control-Modells basierend auf: Schmerz-LTP-basierter Autofazilitation, sekundärer Hyperalgesie und Allodynie

Erklärung siehe Text. Dicke Pfeile: Schmerzleitung durch elektrischen und mechanischen Schmerz, volle Linien: erhöhte Schmerzleitung nach der Konditionierung, gestrichelte Linien: Konditionierung heterosynaptischer Bahnen durch HFS, Strichpunktlinie: taktile Leitung; graue Linien: TRPV-positive Pfade, schwarze Linien: Capsaicin unempfindliche Pfade; HFS hochfrequente Stromstimulation zur Induktion der Hyperalgesie, EPS Elektrische schmerzhafte Reize.

Anhand des Modells (Abbildung 14) wird postuliert, dass homotope Schmerz-LTP auf Autofazilitation von C-Fasern basiert, nicht aber auf den zentralen schmerzspezifischen Interneuronen (CPSN) von A-Fasern. Bei sekundärer Hyperalgesie werden die CPSNs der TRPV1-negativen A-Fasern heterosynaptisch durch TRPV1-positive C CPSN, sensibilisiert. Capsaicinunempfindliche A-Faser-CPSN wie auch capsaicinunempfindliche C-Faser-CSPNs tragen exzitatorisch heterosynaptisch zu einer kurzfristigen Potentierung (STP; Dauer ~30 Minuten) capsaicinunempfindlicher A-Faser-CPSNs bei. A- $\beta$ -Fasern werden heterosynaptisch nur durch TRPV-positive-C-Fasern fazilitiert und können als Mechanismus der Allodynie beschrieben werden. Diese heterosynaptische Verstärkung wird als Gain-Control-Modell zusammengefasst. Da sich für die primär afferente Depolarisation keine Befunde zeigen, wurde dies nicht ins Modell aufgenommen.

#### 4.7 Methodische Limitationen

Um die Effektstärken zu verbessern, die Daten zwischen den Experimenten noch besser vergleichen zu können und die gesamte Studie in kürzerer Zeit durchführen zu

können, hätten die A-Faserleitungsblockadeexperiment zuerst durchgeführt werden sollen, um dann nach einer Erholungspause die Capsaicindesensitivierung bei derselben Stichprobe von Probanden auf dem Handrücken durchzuführen. Hierdurch wäre es möglich gewesen, auch zwischen den Experimenten in gepaarten Tests, bspw. in einer MANOVA mit Messswiederholung und Faktoren zu testen. In anderen Studien des Lehrstuhls für Neurophysiologie, die sich zwar im Publikationsprozess befinden, aber die nicht Gegenstand dieser Arbeit sind, wurden HFS und nachfolgend LFS im selben Experiment hintereinander gesetzt, was zu einer Aufhebung der Hyperalgesie führt. Dies böte die Möglichkeit bei nur einer aufwendigen Capsaicindesensitivierung auch die Rolle TRPV1-Fasern bei der Langzeitdepression zu untersuchen und die Versuchszeit nur um 15 Minuten für LFS und 30 Minuten für das Monitoring der LTD / Löschung der Hyperalgesie zu verlängern. Insgesamt wäre es dann möglich, die Beiträge der verschiedenen Fasertypen (vgl. Tabelle 5) zur Schmerz-LTP präziser schätzen zu können.

#### 4.8 Schlussfolgerungen und Ausblick

In Übereinstimmung mit dem Konzept, dass epikutane elektrische Impulse alle intradermalen Nervenenden aktivieren können, wurde festgestellt, dass alle Nozizeptoren zu HFS-induzierten Schmerzen beigetragen haben. Dabei haben C-Fasern einen größeren relativen Beitrag als A $\delta$  Fasern bzw. haben TRPV1-positive und TRPV1-negative Fasern einen gleichen Beitrag. Wie aus Tierversuchen vorhergesagt, leisteten TRPV1-positive C-Faser-Nozizeptoren den größten Beitrag zur Induktion von homotoper und heterotoper Schmerz-LTP (sekundäre Hyperalgesie). TRPV1 negative C-Fasern induzierten homotope Autofazilitation, nicht aber heterotope Schmerz-LTP. Sie stehen wahrscheinlich im Zusammenhang mit MRGPRD-exprimierenden Afferenzen (Zhang et al., 2013), eine Hypothese, die in weiteren elektrophysiologischen Studien getestet werden muss. TRPV1-positive A-Fasern leisteten einen kleinen Beitrag zur Induktion der heterotopen Schmerz-LTP, der bei capsaicininduzierter sekundärer Hyperalgesie nicht zu sehen ist (W. Magerl et al., 2001). Deshalb benötigen sie möglicherweise eine hohe HFS-induzierte Entladungsfrequenz, die durch chemische Stimulation nicht erreicht wird. Obwohl TRPV1-negative A-Fasern die Hauptursache für die Vermittlung von Pinprickschmerzen sind, die bei heterotoper Schmerz-LTP stark facilitiert wurden, scheinen sie nicht zur Induktion von Schmerz-LTP beizutragen. Diese Befunde weisen darauf hin, dass verschiedene periphere Faserklassen die Induktion von Schmerz-LTP, seine Ausdehnung auf die benachbarte Haut und die daraus resultierende erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Pinprick beim Menschen vermitteln.

TRPV1-Rezeptoren werden nach verschiedenen Arten von Nervenverletzungen hochreguliert, insbesondere bei unverletzten Axonen (Facer et al., 2007; Hudson et al., 2001; Kim et al., 2008; Wang et al., 2011). Bei neuropathischen Schmerzen war die Hyperalgesie nur bei Patienten mit Wildtyp-TRPV1-Allelen vorhanden, nicht aber bei Patienten mit einem vermuteten Mangel an TRPV1-Einzel-Nukleotid-Polymorphismus (Binder, Stengel, Klebe, Wasner, & Baron, 2011). TRPV1 wird bei verschiedenen Krankheiten des Menschen hochreguliert, wie Vulvodynie (Tympanidis et al., 2004), post-mastektomische Schmerzen (Gopinath et al., 2005), posttraumatische Hauthyperalgesie (Facer et al., 2007), Reizdarmsyndrom (Akbar et al., 2010), rektale Überempfindlichkeit und Harndrang (Chan et al., 2003), dem ‚Burning Mouth-Syndrom‘ (Yilmaz et al., 2007) oder postoperative Schmerzen nach Hautschnitten (Banik & Brennan, 2009; Barabas & Stucky, 2013; Mitchell et al., 2014; Pogatzki-Zahn, Shimizu, Caterina, & Raja, 2005). Diese Beobachtungen deuten darauf

hin, dass diese Patienten möglicherweise anfälliger für Hyperalgesie im Zusammenhang mit der Schmerzsensitivierung des Schmerz-LTP-Typs sind.

Umgekehrt kann der wichtigste klinische Effekt von TRPV1-Antagonisten darin bestehen, den Übergang von akuten zu chronischen Schmerzen durch heterotope Schmerz-LTP und zentrale Sensibilisierung zu verhindern, während die akute Schmerzempfindlichkeit nur teilweise beeinträchtigt wird (vgl. Patapoutian, Tate, und Woolf (2009)). Dementsprechend wurde ein hochkonzentriertes Capsaicinpflaster zur Behandlung von neuropathischen Schmerzen eingeführt, das nozizeptive epidermale Nervenfasern defunktionalisiert (P. Anand & Bley, 2011; Kennedy et al., 2010; Malmberg et al., 2004). Dieses Pflaster reduziert Sensibilitätsstörungen bei Patienten mit neuropathischen Schmerzen. Es ist besonders effektiv bei Patienten mit kurzer Krankheitsdauer (<6 Monate). Patienten mit chronischen neuropathischen Schmerzen erfahren nach Capsaicinpflasterbehandlung eine Reduktion der Schmerzen (Backonja et al., 2008; Derry, Rice, Cole, Tan, & Moore, 2017; Höper, Helfert, Heskamp, Maihöfner, & Baron, 2014; Maihöfner & Heskamp, 2014; Simpson, Brown, Tobias, & Group, 2008). Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen wird ein früher und nachhaltiger Einsatz der Capsaicinpflasterapplikation zur Prävention vorgeschlagen. Die vollständige funktionelle Elimination der Nozizeptorpopulationen, die eine Schmerzsensitivierung induzieren und aufrechterhalten, könnte sich nicht nur als sinnvoller Therapieansatz zur Reduktion neuropathischer Schmerzen sondern auch als sinnvolle Präventionsmaßnahme herausstellen.

Die Ergebnisse könnten auch dazu beitragen, die im klinischen Alltag häufig zu beobachtende, unzureichende Wirksamkeit von Schmerzmedikamenten zu erklären. In der Vergangenheit wurden in der Pharmaindustrie analgetische Substanzen im Tierexperiment oft ausschließlich unter dem Aspekt hin untersucht, inwiefern diese Substanzen einer Überempfindlichkeit auf nozizeptive Reize entgegenwirken können. Das Element der zentralen Sensibilisierung wurde dabei oft vernachlässigt. Unter der Annahme, dass chronische Schmerzen nicht nur durch TRPV1-positive Fasern über Mechanismen der sekundären Hyperalgesie vermittelt werden, sondern auch über Autofazilitation, die über TRPV1-negative Fasern vermittelt wird, stellt dies ein potientes Ziel zur weiteren Erforschung dar. So wird in der Literatur bisher das Thema Autofazilitation und TRPV1-negative Fasern nicht beschrieben. Ebenfalls bleibt die Unterscheidung der Rolle der A-Fasernozizeptoren zur Sensibilisierung in Tiermodelle bisher unberücksichtigt.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Langzeitpotenzierung im Hinterhorn des Rückenmarks erfordert eine peptiderge C-Faseraktivierung bei Tieren. Zu den wahrnehmbaren Korrelaten der Langzeitpotenzierung nach hochfrequenter elektrischer Stimulation beim Menschen gehören eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber elektrischen Reizen am Ort der hochfrequenten Stromstimulation (homotope Schmerz-Langzeitpotenzierung) und eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Pinprick in der Umgebung der Hochfrequenz-Stimulationsstelle (heterotope Schmerz-Langzeitpotenzierung bzw. sekundären Hyperalgesie). Zur Charakterisierung der peripheren Faserpopulationen, die an der Induktion der Schmerz-Langzeitpotenzierung beteiligt sind, wurden zwei selektive Nervenblockadexperimente an 30 gesunden männlichen Probanden durchgeführt. Eine funktionelle Blockade von TRPV1-positiven Nozizeptoren durch hochkonzentriertes Capsaicin (verifiziert durch den Verlust von Hitzeschmerzen) reduzierte die Schmerzratings signifikant um 47% ( $p < 0,001$ ), homotope Schmerz-Langzeitpotenzierung um 71% ( $p < 0,01$ ), heterotope Schmerz-Langzeitpotenzierung um 92% ( $p < 0,001$ ) und den Bereich der sekundären Hyperalgesie um 76% ( $p < 0,001$ ). Die selektive Blockade der A-Faserleitung durch Nervenkompression (verifiziert durch den Verlust des ersten Schmerzes nach Pinprickprickapplikation) reduzierte die Schmerzratings zur Hochfrequenz-Stimulation signifikant um 37% ( $p < 0,01$ ), nicht aber die homotope Schmerz-Langzeit-Potenzierung (-5%). Es hatte einen marginalen Einfluss auf die heterotope Schmerz-Langzeitpotenzierung (-35%,  $p = 0,059$ ), während der Bereich der sekundären Hyperalgesie unverändert blieb (-2%,  $p = 0,88$ ). Zusammenfassend kann gesagt werden, dass alle Nozizeptorunterklassen zu hochfrequenten, stimulierenden Schmerzen beitragen (mit einem relativen Anteil von  $C > A\delta$  Fasern und einem gleichen Anteil von TRPV1-positiven und TRPV1-negativen Fasern). TRPV1-positive C-Fasern sind die Hauptinduktoren der homotopen und heterotopen Schmerz-Langzeitpotenzierung. TRPV1-positive A-Fasern tragen wesentlich zur Induktion der heterotopen Schmerz-Langzeitpotenzierung bei. TRPV1-negative C-Fasern induzieren eine Komponente der homotopen Autofazilitation, aber keine heterotope Schmerz-Langzeitpotenzierung. TRPV1-negative A-Fasern vermitteln Pinprickschmerzen und Hyperalgesie, aber sie scheinen nicht zur Induktion der Schmerz-Langzeitpotenzierung beizutragen. Diese Ergebnisse zeigen, dass verschiedene periphere Faserklassen die Induktion einer Schmerzsensitivierung, die der Langzeitpotenzierung ähnlich ist, deren räumliche Ausbreitung auf die benachbarte Haut (z.B. sekundäre Hyperalgesie) und die daraus resultierende erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Pinprick beim Menschen vermitteln. Nozizeptive Afferenzen, die eine Schmerzsensitivierung induzieren, können leicht von denjenigen, die Schmerzen vermitteln, getrennt werden. Diese Erkenntnisse tragen wesentlich zum Verständnis der Mechanismen der Schmerzsensitivierung bei, die die Grundlage für das Verständnis der Mechanismen der Hyperalgesie bei Patienten bilden.



## 6 LITERATURVERZEICHNIS

- Adriaensen, H., Gybels, J., Handwerker, H.O., & Van Hees, J. (1983). Response properties of thin myelinated (A-delta) fibers in human skin nerves. *J Neurophysiol*, 49(1), 111-122.
- Akbar, A., Yiangou, Y., Facer, P., Brydon, W.G., Walters, J.R., Anand, P., & Ghosh, S. (2010). Expression of the TRPV1 receptor differs in quiescent inflammatory bowel disease with or without abdominal pain. *Gut*, 59(6), 767-774. doi: 10.1136/gut.2009.194449
- Anand, P., & Bley, K.J.B.j.o.a. (2011). Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch. 107(4), 490-502.
- Anand, U., Otto, W.R., Casula, M.A., Day, N.C., Davis, J.B., Bountra, C., . . . Anand, P. (2006). The effect of neurotrophic factors on morphology, TRPV1 expression and capsaicin responses of cultured human DRG sensory neurons. *Neurosci Lett*, 399(1-2), 51-56. doi: 10.1016/j.neulet.2006.01.046
- Andrew, D., & Greenspan, J.D. (1999). Peripheral coding of tonic mechanical cutaneous pain: comparison of nociceptor activity in rat and human psychophysics. *J Journal of neurophysiology*, 82(5), 2641-2648.
- Bachy, I., Franck, M.C., Li, L., Abdo, H., Pattyn, A., & Ernfors, P. (2011). The transcription factor Cux2 marks development of an A-delta sublineage of TrkA sensory neurons. *Dev Biol*, 360(1), 77-86. doi: 10.1016/j.ydbio.2011.09.007
- Backonja, M., Wallace, M.S., Blonsky, E.R., Cutler, B.J., Malan Jr, P., Rauck, R., & Tobias, J. (2008). NGX-4010, a high-concentration capsaicin patch, for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomised, double-blind study. *J The Lancet Neurology*, 7(12), 1106-1112.
- Banik, R.K., & Brennan, T.J. (2009). Trpv1 mediates spontaneous firing and heat sensitization of cutaneous primary afferents after plantar incision. *Pain*, 141(1-2), 41-51. doi: 10.1016/j.pain.2008.10.004
- Barabas, M.E., & Stucky, C.L. (2013). TRPV1, but not TRPA1, in primary sensory neurons contributes to cutaneous incision-mediated hypersensitivity. *Mol Pain*, 9, 9. doi: 10.1186/1744-8069-9-9
- Baumann, T.K., Simone, D.A., Shain, C.N., & LaMotte, R.H. (1991). Neurogenic hyperalgesia: the search for the primary cutaneous afferent fibers that contribute to capsaicin-induced pain and hyperalgesia. *J Neurophysiol*, 66(1), 212-227.
- Binder, A., Stengel, M., Klebe, O., Wasner, G., & Baron, R. (2011). Topical High-Concentration (40%) Menthol-Somatosensory Profile of a Human Surrogate Pain Model. *Journal of Pain*, 12(7), 764-773. doi: 10.1016/j.jpain.2010.12.013
- Brenneis, C., Kistner, K., Puopolo, M., Segal, D., Roberson, D., Sisignano, M., . . . Woolf, C.J. (2013). Phenotyping the function of TRPV1-expressing sensory neurons by targeted axonal silencing. *J Neurosci*, 33(1), 315-326. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2804-12.2013
- Bromm, B., & Treede, R.D. (1983). CO2 laser radiant heat pulses activate C nociceptors in man. *Pflugers Arch*, 399(2), 155-156.
- Campero, M., & Bostock, H. (2010). Unmyelinated afferents in human skin and their responsiveness to low temperature. *Neurosci Lett*, 470(3), 188-192. doi: 10.1016/j.neulet.2009.06.089

- Campero, M., Serra, J., & Ochoa, J.L. (2005). Peripheral projections of sensory fascicles in the human superficial radial nerve. *Brain*, 128(Pt 4), 892-895. doi: 10.1093/brain/awh438
- Cavanaugh, D.J., Chesler, A.T., Braz, J.M., Shah, N.M., Julius, D., & Basbaum, A.I. (2011). Restriction of Transient Receptor Potential Vanilloid-1 to the Peptidergic Subset of Primary Afferent Neurons Follows Its Developmental Downregulation in Nonpeptidergic Neurons. *Journal of Neuroscience*, 31(28), 10119-10127. doi: 10.1523/jneurosci.1299-11.2011
- Cavanaugh, D.J., Lee, H., Lo, L., Shields, S.D., Zylka, M.J., Basbaum, A.I., & Anderson, D.J. (2009). Distinct subsets of unmyelinated primary sensory fibers mediate behavioral responses to noxious thermal and mechanical stimuli. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(22), 9075-9080. doi: 0901507106 [pii]10.1073/pnas.0901507106
- Chan, C.L., Facer, P., Davis, J.B., Smith, G.D., Egerton, J., Bountra, C., . . . Anand, P. (2003). Sensory fibres expressing capsaicin receptor TRPV1 in patients with rectal hypersensitivity and faecal urgency. *Lancet*, 361(9355), 385-391.
- Cooke, S., & Bliss, T. (2006). Plasticity in the human central nervous system. *Brain*, 129(7), 1659-1673.
- Cruccu, G., Pennisi, E., Truini, A., Iannetti, G., Romaniello, A., Le Pera, D., . . . Valeriani, M. (2003). Unmyelinated trigeminal pathways as assessed by laser stimuli in humans. *Brain*, 126(10), 2246-2256.
- Derry, S., Rice, A.S., Cole, P., Tan, T., & Moore, R.A. (2017). Topical capsaicin (high concentration) for chronic neuropathic pain in adults. *J The Cochrane Library*.
- Dirajlal, S., Pauers, L.E., & Stucky, C.L. (2003). Differential response properties of IB(4)-positive and -negative unmyelinated sensory neurons to protons and capsaicin. *J Neurophysiol*, 89(1), 513-524. doi: 10.1152/jn.00371.2002
- Facer, P., Casula, M.A., Smith, G.D., Benham, C.D., Chessell, I.P., Bountra, C., . . . Anand, P. (2007). Differential expression of the capsaicin receptor TRPV1 and related novel receptors TRPV3, TRPV4 and TRPM8 in normal human tissues and changes in traumatic and diabetic neuropathy. *BMC Neurol*, 7, 11. doi: 10.1186/1471-2377-7-11
- Finnerup, N.B., & Jensen, T.S. (2006). Mechanisms of disease: mechanism-based classification of neuropathic pain-a critical analysis. *Nat Clin Pract Neurol*, 2(2), 107-115. doi: 10.1038/ncpneuro0118
- Garell, P.C., McGillis, S.L., & Greenspan, J.D. (1996). Mechanical response properties of nociceptors innervating feline hairy skin. *J Neurophysiol*, 75(3), 1177-1189.
- Gopinath, P., Wan, E., Holdcroft, A., Facer, P., Davis, J.B., Smith, G.D., . . . Anand, P. (2005). Increased capsaicin receptor TRPV1 in skin nerve fibres and related vanilloid receptors TRPV3 and TRPV4 in keratinocytes in human breast pain. *BMC Womens Health*, 5(1), 2. doi: 10.1186/1472-6874-5-2
- Greenspan, J.D., Craft, R.M., LeResche, L., Arendt-Nielsen, L., Berkley, K.J., Fillingim, R.B., . . . Mayer, E.A. (2007). Studying sex and gender differences in pain and analgesia: a consensus report. *Pain*, 132, S26-S45.
- Guo, A., Vulchanova, L., Wang, J., Li, X., & Elde, R. (1999). Immunocytochemical localization of the vanilloid receptor 1 (VR1): relationship to neuropeptides, the P2X3 purinoceptor and IB4 binding sites. *Eur J Neurosci*, 11(3), 946-958.
- Hansen, N., Klein, T., Magerl, W., & Treede, R.-D. (2007). Psychophysical evidence for long-term potentiation of C-fiber and Aδ-fiber pathways in humans by analysis of pain descriptors. *J Journal of neurophysiology*, 97(3), 2559-2563.

- Heinke, B., Balzer, E., & Sandkuhler, J. (2004). Pre- and postsynaptic contributions of voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channels to nociceptive transmission in rat spinal lamina I neurons. *Eur J Neurosci*, 19(1), 103-111.
- Henrich, F., Magerl, W., Klein, T., Greffrath, W., & Treede, R.D. (2015). Capsaicin-sensitive C- and A-fibre nociceptors control long-term potentiation-like pain amplification in humans. *Brain*. doi: 10.1093/brain/awv108
- Heppelmann, B., Heuss, C., & Schmidt, R.F. (1988). Fiber size distribution of myelinated and unmyelinated axons in the medial and posterior articular nerves of the cat's knee joint. *Somatosens Res*, 5(4), 273-281.
- Hines, A.E., Birn, H., Teglbjaerg, P.S., & Sinkjaer, T. (1996). Fiber type composition of articular branches of the tibial nerve at the knee joint in man. *Anat Rec*, 246(4), 573-578. doi: 10.1002/(SICI)1097-0185(199612)246:4<573::AID-AR18>3.0.CO;2-L
- Hjerling-Leffler, J., Alqatari, M., Ernfors, P., & Koltzenburg, M. (2007). Emergence of functional sensory subtypes as defined by transient receptor potential channel expression. *J Neurosci*, 27(10), 2435-2443. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5614-06.2007
- Höper, J., Helfert, S., Heskamp, M.-L.S., Maihöfner, C.G., & Baron, R. (2014). High concentration capsaicin for treatment of peripheral neuropathic pain: effect on somatosensory symptoms and identification of treatment responders. *J Current medical research*, 30(4), 565-574.
- Hsieh, Y.-L., Lin, C.-L., Chiang, H., Fu, Y.-S., Lue, J.-H., & Hsieh, S.-T. (2012). Role of peptidergic nerve terminals in the skin: reversal of thermal sensation by calcitonin gene-related peptide in TRPV1-depleted neuropathy. *J PloS one*, 7(11), e50805.
- Huang, J.H., Ali, Z., Travison, T.G., Campbell, J.N., & Meyer, R.A. (2000). Spatial mapping of the zone of secondary hyperalgesia reveals a gradual decline of pain with distance but sharp borders. *Pain*, 86(1-2), 33-42.
- Hudson, L.J., Bevan, S., Wotherspoon, G., Gentry, C., Fox, A., & Winter, J. (2001). VR1 protein expression increases in undamaged DRG neurons after partial nerve injury. *Eur J Neurosci*, 13(11), 2105-2114.
- IASP. (2018). IASP Terminology. Abgerufen am 21.11.2018, auf International Association for the Study of Pain (IASP) <http://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698>
- Ikeda, H., Heinke, B., Ruscheweyh, R., & Sandkuhler, J. (2003). Synaptic plasticity in spinal lamina I projection neurons that mediate hyperalgesia. *Science*, 299(5610), 1237-1240.
- Ikeda, H., Heinke, B., Ruscheweyh, R., & Sandkuhler, J. (2003). Synaptic plasticity in spinal lamina I projection neurons that mediate hyperalgesia. *Science*, 299(5610), 1237-1240.
- Ikeda, H., Kusudo, K., Ryu, P.D., & Murase, K. (2003). Effects of corticotropin-releasing factor on plasticity of optically recorded neuronal activity in the substantia gelatinosa of rat spinal cord slices. *Pain*, 106(1-2), 197-207.
- Ikeda, H., Stark, J., Fischer, H., Wagner, M., Drdla, R., Jager, T., & Sandkuhler, J. (2006). Synaptic amplifier of inflammatory pain in the spinal dorsal horn. *Science*, 312(5780), 1659-1662. doi: 10.1126/Science.1127233
- Inui, K., & Kakigi, R. (2012). Pain perception in humans: use of intraepidermal electrical stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 83(5), 551-556. doi: 10.1136/jnnp-2011-301484

- Ji, R.R., Kohno, T., Moore, K.A., & Woolf, C.J. (2003). Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci*, 26(12), 696-705.
- Jonas, R., Namer, B., Stockinger, L., Chisholm, K., Schnakenberg, M., Landmann, G., . . . Rukwied, R. (2018). Tuning in C-nociceptors to reveal mechanisms in chronic neuropathic pain. *Ann Neurol*, 83(5), 945-957. doi: 10.1002/ana.25231
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., & Jessell, T.M. (2000). *Principles of Neural Science*. New York: McGraw-Hill.
- Kennedy, W., Vanhove, G.F., Lu, S., Tobias, J., Bley, K., Walk, D., . . . Selim, M. (2010). A randomized, controlled, open-label study of the long-term effects of NGX-4010, a high-concentration capsaicin patch, on epidermal nerve fiber density and sensory function in healthy volunteers. *The Journal of Pain*, 11(6), 579-587.
- Khasabov, S.G., Rogers, S.D., Ghilardi, J.R., Peters, C.M., Mantyh, P.W., & Simone, D.A. (2002). Spinal neurons that possess the substance P receptor are required for the development of central sensitization. *J Neurosci*, 22(20), 9086-9098.
- Kim, H.Y., Park, C.K., Cho, I.H., Jung, S.J., Kim, J.S., & Oh, S.B. (2008). Differential Changes in TRPV1 expression after trigeminal sensory nerve injury. *J Pain*, 9(3), 280-288. doi: 10.1016/j.jpain.2007.11.013
- Klein, T., Magerl, W., Hopf, H.-C., Sandkühler, J., & Treede, R.-D. (2004). Perceptual correlates of nociceptive long-term potentiation and long-term depression in humans. *J Journal of Neuroscience*, 24(4), 964-971.
- Klein, T., Magerl, W., Hopf, H.C., Sandkuhler, J., & Treede, R.D. (2004). Perceptual correlates of nociceptive long-term potentiation and long-term depression in humans. *J Neurosci*, 24(4), 964-971. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1222-03.2004
- Klein, T., Magerl, W., Hopf, H.C., Sandkühler, J., & Treede, R.D. (2002). Effects of ketamine on the induction of LTP-like changes in human pain perception. *Pflügers Arch.Eur.J.Physiol., Suppl.* 443, S292.
- Klein, T., Magerl, W., Nickel, U., Hopf, H.C., Sandkuhler, J., & Treede, R.D. (2007). Effects of the NMDA-receptor antagonist ketamine on perceptual correlates of long-term potentiation within the nociceptive system. *Neuropharmacology*, 52(2), 655-661. doi: S0028-3908(06)00329-7 [pii]10.1016/j.neuropharm.2006.09.008
- Klein, T., Magerl, W., Rolke, R., & Treede, R.D. (2005). Human surrogate models of neuropathic pain. *Pain*, 115((2-3)), 227-233.
- Klein, T., Magerl, W., Rolke, R., & Treede, R.D. (2005). Human surrogate models of neuropathic pain. *Pain*, 115(3), 227-233.
- Klein, T., Magerl, W., & Treede, R.D. (2006). Perceptual correlate of nociceptive long-term potentiation (LTP) in humans shares the time course of early-LTP. *J Neurophysiol*, 96(6), 3551-3555. doi: 00755.2006 [pii]10.1152/jn.00755.2006
- Klein, T., Magerl, W., Treede, R.D., & Pogatzki-Zahn, E.M. (2008). Physiologie u.Pathophysiologie des postoperativen Schmerzes. In E. M. Pogatzki-Zahn, H. K. Van Aken, & P. K. Zahn (Eds.), *Postoperative Schmerztherapie* (pp. 7-25). Stuttgart: Thieme.
- Klein, T., Stahn, S., Magerl, W., & Treede, R.-D. (2006). Similar perceptual changes parallel nociceptive LTP in areas of primary and secondary hyperalgesia. *Acta Physiol*, 186(Suppl. 1), 77.
- Klein, T., Stahn, S., Magerl, W., & Treede, R.-D. (2008). The role of heterosynaptic facilitation in long-term potentiation (LTP) of human pain sensation. *J Pain*, 139(3), 507-519.

- Kress, M., Koltzenburg, M., Reeh, P., & Handwerker, H. (1992). Responsiveness and functional attributes of electrically localized terminals of cutaneous C-fibers in vivo and in vitro. *J Journal of neurophysiology*, 68(2), 581-595.
- LaMotte, R.H., Lundberg, L.E.R., & Torebjörk, H.E. (1992). Pain, hyperalgesia and activity in nociceptive C units in humans after intradermal injection of capsaicin. *J Physiol*, 448, 749-764.
- LaMotte, R.H., Shain, C.N., Simone, D.A., & Tsai, E.F. (1991). Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms. *J Neurophysiol*, 66(1), 190-211.
- LaMotte, R.H., & Thalhammer, J.G. (1982). Response properties of high-threshold cutaneous cold receptors in the primate. *Brain Res*, 244(2), 279-287. doi: 0006-8993(82)90086-5 [pii]
- Lang, S., Klein, T., Magerl, W., & Treede, R.-D. (2007). Modality-specific sensory changes in humans after the induction of long-term potentiation (LTP) in cutaneous nociceptive pathways. *J Pain*, 128(3), 254-263.
- Lawson, J.J., McIlwrath, S.L., Woodbury, C.J., Davis, B.M., & Koerber, H.R. (2008). TRPV1 unlike TRPV2 is restricted to a subset of mechanically insensitive cutaneous nociceptors responding to heat. *J Pain*, 9(4), 298-308. doi: 10.1016/j.jpain.2007.12.001
- Lawson, S.N., Crepps, B., & Perl, E.R. (2002). Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity and afferent receptive properties of dorsal root ganglion neurones in guinea-pigs. *J Physiol*, 540(Pt 3), 989-1002. doi: PHY\_13086 [pii]
- Lawson, S.N., Crepps, B.A., & Perl, E.R. (1997). Relationship of substance P to afferent characteristics of dorsal root ganglion neurones in guinea-pig. *J Physiol*, 505 ( Pt 1), 177-191.
- Lozier, A.P., & Kendig, J.J. (1995). Long-term potentiation in an isolated peripheral nerve-spinal cord preparation. *J Neurophysiol*, 74(3), 1001-1009.
- Ma, Q.P. (2002). Expression of capsaicin receptor (VR1) by myelinated primary afferent neurons in rats. *Neurosci Lett*, 319(2), 87-90.
- Magerl, W., Ali, Z., Ellrich, J., Meyer, R.A., & Treede, R.D. (1999). C- and A delta-fiber components of heat-evoked cerebral potentials in healthy human subjects. *Pain*, 82(2), 127-137. doi: S0304-3959(99)00061-5 [pii]
- Magerl, W., Fuchs, P., Meyer, R., & Treede, R.D. (2001). Roles of capsaicin-insensitive nociceptors in cutaneous pain and secondary hyperalgesia. *Brain*, 124(Pt 9), 1754-1764.
- Magerl, W., & Klein, T. (2006). Experimental human models of neuropathic pain. In M. J. Aminoff, F. Boller, & D. F. Schwab (Eds.), *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 81 Pain (pp. 503-516). Edinburgh: Elsevier.
- Magerl, W., Szolcanyi, J., Westerman, R.A., & Handwerker, H.O. (1987). Laser doppler measurements of skin vasodilation elicited by percutaneous electrical stimulation of nociceptors in humans. *Neurosci Lett*, 82, 349-354.
- Magerl, W., Treede RD. (2011). Physiologie von Nozizeption und Schmerz. In B. Kroöner-Herwig, Frettlöh, J., Klinger, R., Nilges, P. (Ed.), *Schmerzpsychotherapie: Grundlagen - Diagnostik - Krankheitsbilder - Behandlung* (pp. 29-75).
- Magerl, W., & Treede, R.D. (2017). Physiologie von Nozizeption und Schmerz. In B. Kröner-Herwig, J. Frettlöh, F. Klinger, & P. Nilges (Eds.), *Schmerzpsychotherapie* (8. ed., pp. 31-72). Berlin: Springer.
- Magerl, W., Wilk, S., & Treede, R.-D. (1998). Secondary hyperalgesia and perceptual wind-up following intradermal injection of capsaicin in humans. 74(2-3), 257-268.

- Maier, C., Baron, R., Tolle, T.R., Binder, A., Birbaumer, N., Birklein, F., . . . Treede, R.D. (2010). Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): somatosensory abnormalities in 1236 patients with different neuropathic pain syndromes. *Pain*, 150(3), 439-450. doi: 10.1016/j.pain.2010.05.002
- Maihöfner, C., & Heskamp, M.L. (2014). Treatment of peripheral neuropathic pain by topical capsaicin: Impact of pre-existing pain in the QUEPP-study. *J European journal of pain*, 18(5), 671-679.
- Malmberg, A.B., Mizisin, A.P., Calcutt, N.A., von Stein, T., Robbins, W.R., & Bley, K.R. (2004). Reduced heat sensitivity and epidermal nerve fiber immunostaining following single applications of a high-concentration capsaicin patch. *J Pain*, 111(3), 360-367.
- Martin, V.T. (2009). Ovarian hormones and pain response: a review of clinical and basic science studies. *Gend Med*, 6 Suppl 2, 168-192. doi: 10.1016/j.genm.2009.03.006
- McCoy, E.S., Taylor-Blake, B., & Zylka, M.J. (2012). CGRP $\alpha$ -expressing sensory neurons respond to stimuli that evoke sensations of pain and itch. *PLoS One*, 7(5), e36355. doi: 10.1371/journal.pone.0036355
- Messlinger, K., Pawlak, M., Steinbach, H., Trost, B., & Schmidt, R.F. (1995). A new combination of methods for the localization, identification, and three-dimensional reconstruction of the sensory endings of articular afferents characterized by electrophysiology. *Cell Tissue Res*, 281(2), 283-294.
- Meyer, R.A., Davis, K.D., Cohen, R.H., Treede, R.D., & Campbell, J.N. (1991). Mechanically insensitive afferents (MIAs) in cutaneous nerves of monkey. *Brain Res*, 561(2), 252-261.
- Mitchell, K., Lebovitz, E.E., Keller, J.M., Mannes, A.J., Nemenov, M.I., & Iadarola, M.J. (2014). Nociception and inflammatory hyperalgesia evaluated in rodents using infrared laser stimulation after Trpv1 gene knockout or resiniferatoxin lesion. *Pain*. doi: 10.1016/j.pain.2014.01.007
- Mouraux, A., Iannetti, G.D., & Plaghki, L. (2010). Low intensity intra-epidermal electrical stimulation can activate A $\delta$ -nociceptors selectively. *Pain*, 150(1), 199-207. doi: 10.1016/j.pain.2010.04.026
- Naka, A., Gruber-Schoffnegger, D., & Sandkühler, J. (2013). Non-Hebbian plasticity at C-fiber synapses in rat spinal cord lamina I neurons. *J PAIN®*, 154(8), 1333-1342.
- Nichols, M.L., Allen, B.J., Rogers, S.D., Ghilardi, J.R., Honore, P., Luger, N.M., . . . Mantyh, P.W. (1999). Transmission of chronic nociception by spinal neurons expressing the substance P receptor. *Science*, 286(5444), 1558-1561.
- Nolano, M., Simone, D.A., Wendelschafer-Crabb, G., Johnson, T., Hazen, E., & Kennedy, W.R. (1999). Topical capsaicin in humans: parallel loss of epidermal nerve fibers and pain sensation. *Pain*, 81(1-2), 135-145.
- Nugraha, B., Gutenbrunner, C., Barke, A., Karst, M., Schiller, J., Schafer, P., . . . Pain, I.T.f.t.C.o.C. (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: functioning properties of chronic pain. *Pain*, 160(1), 88-94. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001433
- Ochoa, J., & Mair, W.G. (1969). The normal sural nerve in man. I. Ultrastructure and numbers of fibres and cells. *Acta Neuropathol*, 13(3), 197-216.
- Olausson, H., Lamarre, Y., Backlund, H., Morin, C., Wallin, B.G., Starck, G., . . . Bushnell, M.C. (2002). Unmyelinated tactile afferents signal touch and project to insular cortex. *Nat Neurosci*, 5(9), 900-904.

- Patapoutian, A., Tate, S., & Woolf, C.J. (2009). Transient receptor potential channels: targeting pain at the source. *J Nature reviews Drug discovery*, 8(1), 55.
- Peng, Y.B., Ringkamp, M., Campbell, J.N., & Meyer, R.A. (1999). Electrophysiological assessment of the cutaneous arborization of A delta-fiber nociceptors. *J Neurophysiol*, 82(3), 1164-1177.
- Pertovaara, A. (1998). A neuronal correlate of secondary hyperalgesia in the rat spinal dorsal horn is submodality selective and facilitated by supraspinal influence. *J Experimental neurology*, 149(1), 193-202.
- Pfau, D.B., Klein, T., Putzer, D., Pogatzki-Zahn, E.M., Treede, R.D., & Magerl, W. (2011). Analysis of hyperalgesia time courses in humans after painful electrical high-frequency stimulation identifies a possible transition from early to late LTP-like pain plasticity. *Pain*, 152(7), 1532-1539. doi: 10.1016/j.pain.2011.02.037
- Pogatzki-Zahn, E.M., Shimizu, I., Caterina, M., & Raja, S.N. (2005). Heat hyperalgesia after incision requires TRPV1 and is distinct from pure inflammatory pain. *Pain*, 115(3), 296-307. doi: 10.1016/j.pain.2005.03.010
- Qu, L., Fan, N., Ma, C., Wang, T., Han, L., Fu, K., . . . LaMotte, R.H. (2014). Enhanced excitability of MRGPRA3- and MRGPRD-positive nociceptors in a model of inflammatory itch and pain. *Brain*, 137(Pt 4), 1039-1050. doi: 10.1093/brain/awu007
- Rage, M., Van Acker, N., Facer, P., Shenoy, R., Knaapen, M.W., Timmers, M., . . . Plaghki, L. (2010). The time course of CO2 laser-evoked responses and of skin nerve fibre markers after topical capsaicin in human volunteers. *Clin Neurophysiol*, 121(8), 1256-1266. doi: 10.1016/j.clinph.2010.02.159
- Rahn, E.J., Guzman-Karlsson, M.C., & David Sweatt, J. (2013). Cellular, molecular, and epigenetic mechanisms in non-associative conditioning: implications for pain and memory. *Neurobiol Learn Mem*, 105, 133-150. doi: 10.1016/j.nlm.2013.06.008
- Randic, M., Jiang, M.C., & Cerne, R. (1993). Long-term potentiation and long-term depression of primary afferent neurotransmission in the rat spinal cord. *J Neurosci*, 13, 5228-5241.
- Raymond, S.A., Thalhammer, J.G., Popitz-Bergez, F., & Strichartz, G.R. (1990). Changes in axonal impulse conduction correlate with sensory modality in primary afferent fibers in the rat. *Brain Res*, 526(2), 318-321.
- Ren, K., & Dubner, R. (2007). Pain facilitation and activity-dependent plasticity in pain modulatory circuitry: role of BDNF-TrkB signaling and NMDA receptors. *J Molecular neurobiology*, 35(3), 224-235.
- Ringkamp, M., Peng, Y.B., Wu, G., Hartke, T.V., Campbell, J.N., & Meyer, R.A. (2001). Capsaicin responses in heat-sensitive and heat-insensitive a-fiber nociceptors. *J Neurosci*, 21(12), 4460-4468.
- Rolke, R., Andrews, K., Magerl, W., & Treede, R.-D. (2010, 08.07.2010). *Handlungsanweisung für den Untersucher - Eine standardisierte Testbatterie für die Quantitative Sensorische Testung nach den Regeln des Deutschen Forschungsverbundes Neuropathischer Schmerz (DFNS)*. Heidelberg.
- Rolke, R., Baron, R., Maier, C., Tolle, T.R., Treede, R.D., Beyer, A., . . . Wasserka, B. (2006). Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. *Pain*, 123(3), 231-243. doi: S0304-3959(06)00152-7 [pii]10.1016/j.pain.2006.01.041
- Ruscheweyh, R., Wilder-Smith, O., Drdla, R., Liu, X.-G., & Sandkühler, J. (2011). Long-term potentiation in spinal nociceptive pathways as a novel target for pain therapy. *J Molecular pain*, 7(1), 20.

- Rygh, L.J., Suzuki, R., Rahman, W., Wong, Y., Vonsy, J.L., Sandhu, H., . . . Dickenson, A.H. (2006). Local and descending circuits regulate long-term potentiation and zif268 expression in spinal neurons. *Eur J Neurosci*, 24(3), 761-772. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.04968.x
- Sandkühler, J. (2007). *Long-Term Potentiation and Long-Term Depression in the Spinal Cord*. Berlin, Heidelberg, NewYork:Springer.
- Sandkühler, J. (2009). Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *J Physiological reviews*, 89(2), 707-758.
- Schliessbach, J., Siegenthaler, A., Streitberger, K., Eichenberger, U., Nuesch, E., Juni, P., . . . Curatolo, M. (2013). The prevalence of widespread central hypersensitivity in chronic pain patients. *Eur J Pain*, 17(10), 1502-1510. doi: 10.1002/j.1532-2149.2013.00332.x
- Schmalbruch, H. (1986). Fiber composition of the rat sciatic nerve. *Anat Rec*, 215(1), 71-81. doi: 10.1002/ar.1092150111
- Schmelz, M., Schmid, R., Handwerker, H.O., & Torebjork, H.E. (2000). Encoding of burning pain from capsaicin-treated human skin in two categories of unmyelinated nerve fibres. *Brain*, 123 Pt 3, 560-571.
- Schmidt, C., Chenot, J.F., & Kohlmann, T. (2017). Epidemiologie und gesundheitsökonomische Aspekte deschronischenSchmerzes. In B. Kröner-Herwig, J. Frettlöh, K. Klinger, & P. Nilges (Eds.), *Schmerzpsychotherapie* (8 ed., pp. 17-30). Berlin: Springer.
- Schmidt, R.F., Thews, G., & Lang, F. (Eds.). (2000). *Physiologie des Menschen* (28. ed.). Heidelberg: Springer.
- Serra, J., Bostock, H., Solà, R., Aleu, J., García, E., Cokic, B., . . . Quiles, C. (2012). Microneurographic identification of spontaneous activity in C-nociceptors in neuropathic pain states in humans and rats. *Pain*, 153(1), 42-55.
- Shyu, B.-C., & Vogt, B. (2009). Short-term synaptic plasticity in the nociceptive thalamic-anterior cingulate pathway. *Mol Pain*, 5(1), 51.
- Simone, D.A., Baumann, T.K., & LaMotte, R.H. (1989). Dose-dependent pain and mechanical hyperalgesia in humans after intradermal injection of capsaicin. *Pain*, 38(1), 99-107. doi: 0304-3959(89)90079-1 [pii]
- Simpson, D.M., Brown, S., Tobias, J., & Group, N.-C.S. (2008). Controlled trial of high-concentration capsaicin patch for treatment of painful HIV neuropathy. *J Neurology*, 70(24), 2305-2313.
- Sinclair, D.C., & Stokes, B.A.R. (1964). The production and characteristics of 'second pain'. *Brain*, 87, 609-618.
- Sinclair, D.C., Weddell, G., & Zander, E. (1952). The relationship of cutaneous sensibility to neurohistology in the human pinna. *J Anat*, 86(4), 402-411.
- Slugg, R.M., Meyer, R.A., & Campbell, J.N. (2000). Response of cutaneous A- and C-fiber nociceptors in the monkey to controlled-force stimuli. *J Neurophysiol*, 83(4), 2179-2191.
- Snider, W.D., & McMahon, S.B. (1998). Tackling pain at the source: new ideas about nociceptors. *Neuron*, 20(4), 629-632.
- Szolcsanyi, J. (1987). Selective responsiveness of polymodal nociceptors of the rabbit ear to capsaicin, bradykinin and ultra-violet irradiation. *J Physiol*, 388, 9-23.
- Tan, A.M., & Waxman, S.G. (2012). Spinal cord injury, dendritic spine remodeling, and spinal memory mechanisms. *Exp Neurol*, 235(1), 142-151. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.08.026
- Tominaga, M., Caterina, M.J., Malmberg, A.B., Rosen, T.A., Gilbert, H., Skinner, K., . . . Julius, D. (1998). The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron*, 21(3), 531-543.



- Torsney, C. (2011). Inflammatory pain unmasks heterosynaptic facilitation in lamina I neurokinin 1 receptor-expressing neurons in rat spinal cord. *J Neurosci*, 31(13), 5158-5168. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6241-10.2011
- Treede, R.-D. (2011). Das Somatosensorische System. In R. Schmidt, F. Lang, & M. Heckmann (Eds.), *Physiologie des Menschen* (31. ed., pp. 273-298). Berlin: Springer.
- Treede, R.D. (2001). Physiologische Grundlagen der Schmerzentstehung und Schmerztherapie. In M. Zenz & I. Jurna (Eds.), *Lehrbuch der Schmerztherapie* (Vol. 2, pp. 39-63). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- Treede, R.D., Meyer, R.A., & Campbell, J.N. (1998). Myelinated mechanically insensitive afferents from monkey hairy skin: heat-response properties. *J Neurophysiol*, 80(3), 1082-1093.
- Treede, R.D., Meyer, R.A., Raja, S.N., & Campbell, J.N. (1992). Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. *Prog Neurobiol*, 38(4), 397-421. doi: 0301-0082(92)90027-C [pii]
- Truini, A., Garcia-Larrea, L., & Cruccu, G. (2013). Reappraising neuropathic pain in humans--how symptoms help disclose mechanisms. *Nat Rev Neurol*, 9(10), 572-582. doi: 10.1038/nrneurol.2013.180
- Tympanidis, P., Casula, M.A., Yiangou, Y., Terenghi, G., Dowd, P., & Anand, P. (2004). Increased vanilloid receptor VR1 innervation in vulvodynia. *Eur J Pain*, 8(2), 129-133. doi: 10.1016/S1090-3801(03)00085-5
- Urban, M., & Gebhart, G. (1999). Supraspinal contributions to hyperalgesia. *J Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(14), 7687-7692.
- Vallbo, A.B., Olsson, H., & Wessberg, J. (1999). Unmyelinated afferents constitute a second system coding tactile stimuli of the human hairy skin. *J Neurophysiol*, 81(6), 2753-2763.
- Valtschanoff, J.G., Rustioni, A., Guo, A., & Hwang, S.J. (2001). Vanilloid receptor VR1 is both presynaptic and postsynaptic in the superficial laminae of the rat dorsal horn. *J Journal of Comparative Neurology*, 436(2), 225-235.
- van den Broeke, E.N. (2018). Central sensitization and pain hypersensitivity: Some critical considerations. *F1000Res*, 7, 1325. doi: 10.12688/f1000research.15956.2
- van den Broeke, E.N., van Heck, C.H., van Rijn, C.M., & Wilder-Smith, O.H. (2011). Neural correlates of heterotopic facilitation induced after high frequency electrical stimulation of nociceptive pathways. *Mol Pain*, 7, 28. doi: 10.1186/1744-8069-7-28
- Vandewauw, I., De Clercq, K., Mulier, M., Held, K., Pinto, S., Van Ranst, N., . . . Voets, T. (2018). A TRP channel trio mediates acute noxious heat sensing. *Nature*, 555(7698), 662-666. doi: 10.1038/nature26137
- Vierck, C.J., Jr., Kline, R.H., & Wiley, R.G. (2003). Intrathecal substance p-saporin attenuates operant escape from nociceptive thermal stimuli. *Neuroscience*, 119(1), 223-232.
- Vikman, K.S., Kristensson, K., & Hill, R.H. (2001). Sensitization of dorsal horn neurons in a two-compartment cell culture model: wind-up and long-term potentiation-like responses. *J Journal of Neuroscience*, 21(19), RC169-RC169.
- Vollert, J., Magerl, W., Baron, R., Binder, A., Enax-Krumova, E.K., Geisslinger, G., . . . Treede, R.D. (2018). Pathophysiological mechanisms of neuropathic pain: comparison of sensory phenotypes in patients and human surrogate pain models. *Pain*, 159(6), 1090-1102. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001190
- Vriens, J., & Voets, T. (2018). Sensing the heat with TRPM3. *Pflugers Arch*, 470(5), 799-807. doi: 10.1007/s00424-017-2100-1

- Vrontou, S., Wong, A.M., Rau, K.K., Koerber, H.R., & Anderson, D.J. (2013). Genetic identification of C fibres that detect massage-like stroking of hairy skin in vivo. *Nature*, 493(7434), 669-673. doi: 10.1038/nature11810
- Wang, T., Molliver, D.C., Jing, X., Schwartz, E.S., Yang, F.C., Samad, O.A., . . . Davis, B.M. (2011). Phenotypic switching of nonpeptidergic cutaneous sensory neurons following peripheral nerve injury. *PLoS One*, 6(12), e28908. doi: 10.1371/journal.pone.0028908
- Weidner, C., Schmelz, M., Schmidt, R., Hansson, B., Handwerker, H., & Torebjörk, H. (1999). Functional attributes discriminating mechano-insensitive and mechano-responsive C nociceptors in human skin. *J Journal of Neuroscience*, 19(22), 10184-10190.
- Wilcox, G.L., & Giesler, G.J., Jr. (1984). An instrument using a multiple layer Peltier device to change skin temperature rapidly. *Brain Res Bull*, 12(1), 143-146.
- Wilder-Smith, O.H., & Arendt-Nielsen, L. (2006). Postoperative Hyperalgesia: Clinical Importance and Relevance. *J Anesthesiology*, 104(3), 601-607.
- Woodcock, J., Witter, J., & Dionne, R.A. (2007). Stimulating the development of mechanism-based, individualized pain therapies. *Nat Rev Drug Discov*, 6(9), 703-710. doi: 10.1038/nrd2335
- Woolf, C.J. (2014). What to call the amplification of nociceptive signals in the central nervous system that contribute to widespread pain? , 155(10), 1911-1912.
- Woolf, C.J., Bennett, G.J., Doherty, M., Dubner, R., Kidd, B., Koltzenburg, M., . . . Torebjörk, E. (1998). Towards a mechanism-based classification of pain? *Pain*, 77(3), 227-229.
- Woolf, C.J., & Salter, M.W. (2000). Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*, 288(5472), 1765-1769.
- Wooten, M., Weng, H.-J., Hartke, T.V., Borzan, J., Klein, A.H., Turnquist, B., . . . Ringkamp, M. (2014). Three functionally distinct classes of C-fibre nociceptors in primates. *J Nature communications*, 5, 4122.
- Yilmaz, Z., Renton, T., Yiangou, Y., Zakrzewska, J., Chessell, I.P., Bountra, C., & Anand, P. (2007). Burning mouth syndrome as a trigeminal small fibre neuropathy: Increased heat and capsaicin receptor TRPV1 in nerve fibres correlates with pain score. *J Clin Neurosci*, 14(9), 864-871. doi: 10.1016/j.jocn.2006.09.002
- Yosipovitch, G., Maibach, H.I., & Rowbotham, M.C. (1999). Effect of EMLA Pre-treatment on Capsaicin-induced Burning and Hyperalgesia. *J Acta Derm Venereol*, 79, 118-121.
- Zeilhofer, H.U. (2005). Synaptic modulation in pain pathways *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology* (pp. 73-100): Springer.
- Zhang, J., Cavanaugh, D.J., Nemenov, M.I., & Basbaum, A.I. (2013). The modality-specific contribution of peptidergic and non-peptidergic nociceptors is manifest at the level of dorsal horn nociceptive neurons. *Journal of Physiology-London*, 591(4), 1097-1110. doi: 10.1113/jphysiol.2012.242115
- Zhou, L.-J., Zhong, Y., Ren, W.-J., Li, Y.-Y., Zhang, T., & Liu, X.-G. (2008). BDNF induces late-phase LTP of C-fiber evoked field potentials in rat spinal dorsal horn. *J Experimental neurology*, 212(2), 507-514.
- Zhou, L.J., Yang, T., Wei, X., Liu, Y., Xin, W.J., Chen, Y., . . . Liu, X.G. (2011). Brain-derived neurotrophic factor contributes to spinal long-term potentiation and mechanical hypersensitivity by activation of spinal microglia in rat. *Brain Behav Immun*, 25(2), 322-334. doi: 10.1016/j.bbi.2010.09.025

- Ziegler, E., Magerl, W., Meyer, R., & Treede, R.-D. (1999). Secondary hyperalgesia to punctate mechanical stimuli: central sensitization to A-fibre nociceptor input. *J Brain*, 122(12), 2245-2257.
- Zylka, M.J., Rice, F.L., & Anderson, D.J. (2005). Topographically distinct epidermal nociceptive circuits revealed by axonal tracers targeted to Mrgprd. *Neuron*, 45(1), 17-25. doi: 10.1016/j.neuron.2004.12.015

## 7 TABELLARISCHER ANHANG

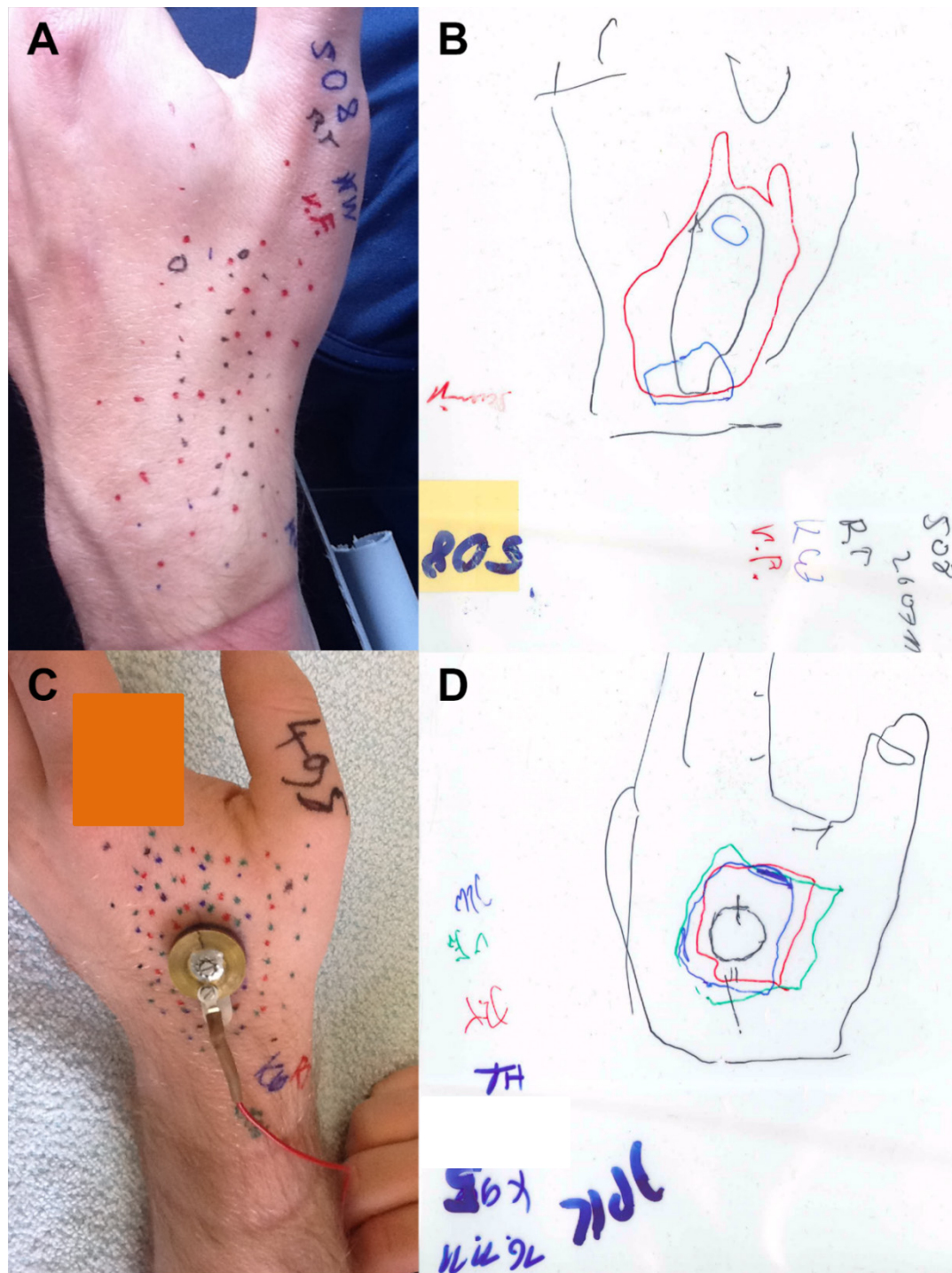
### 7.1 Datenkorrektur und Baseline- und Kontrollnormierung

Bei der Benutzung der NRS 0-100 für Pinprick und EPS zur Erfassung von Hyperalgesie stellen sich mehrere Fragen:

- (1) die Daten sind rechtsschief und selten normalverteilt,
- (2) Ausreißer (wenige hohe Ratings) haben einen zu großen Einfluss auf die Bildung des Mittelwerts.
- (3) „100 ist der subjektiv maximal vorstellbare Schmerz“ kann nicht näher objektiviert und verglichen werden und Probanden mit großen Ratings haben größeren Einfluss als Probanden mit durchweg geringen Ratings.

Hierzu liegt eine Vorgehensweise vor, um die o.g. Probleme zu lösen:

- (a) Es wird zum Testareal ein unkonditioniertes Kontrollareal zum Zwecke der Referenzbildung hinzugenommen.
- (b) Die Manipulationen (HFS, LFS etc.) werden in einem Pre-Post-Design gemessen (Baseline und Monitoring der Hyperalgesie).
- (c) Zu allen Rohwerten wird 0,1 addiert. Hiernach werden alle Werte zur Basis 10 logarithmiert, wie dies auch von Weber und Fechner postuliert wird. Dies stellt annähernd eine Normalverteilung her und der Einfluss von Ausreißern wird reduziert. Die 0,1 müssen als systematischer Fehler in Kauf genommen werden, da von 0-Ratings kein Logarithmus gebildet werden könnte. Für Pinprick und Allodynie wird eine zusätzliche Mittelung von 8 - 512 mN bzw. CW, BR und QT zum jeweiligen Meßzeitpunkt notwendig. Dies entspricht annähernd der geometrischen Mittelbildung und reduziert den Einfluss von Außreißern.
- (d) Für Pinprick und EPS nicht aber für Allodynie werden von allen Werten pro Areal die Werte der Baseline gemittelt. Von allen Werten pro Areal wird dieser Baselinemittelwert subtrahiert. Dies wird als Baselinennormierung bezeichnet und dient dazu die arealspezifische Sensitivität herauszurechnen und Testareale besser miteinander vergleichbar machen zu können.
- (e) Zentrale neurophysiologische Prozesse laufen stetig mit und können eine lokal ausgelöste Hyperalgesie im Signal überlagern. Dies wird kontrolliert, in dem zum jeweiligen Meßzeitpunkt der Wert des unkonditionierten Kontrollareals vom jeweiligen Meßzeitpunkt des Testareals subtrahiert wird. Dies wird als Kontrollnormierung bezeichnet und rechnet Prozesse wie die Habituation heraus.
- (f) Die nun gewonnenen Werte können als Zeitverlauf geplottet werden oder das Intervall vom Monitoring der Hyperalgesie gemittelt werden.
- (g) Der Vorteil dieses Ansatzes ist, dass nur noch die Änderung von Schmerzhaftigkeit –wie bei einem Faktor- abgebildet werden, die dann zur interferenzstatistischen Auswertung zugeführt werden können.



**Abbildung 15: Dokumentation des Monitorings der A-Faserleitungsblockade**  
Die Werte wurden quantifiziert. unvollständige Blockade fotografiert (A) und abgezeichnet (B) beim Screening. Kein Verlust der Kaltwasserdetektion (blau); vollständige Blockade fotografiert (C) und abgezeichnet (D) aus einem Hauptversuch: Kongruente Areale von Reaktionszeit >500ms (Pinprick, rot), Verlust der Kaltwasserdetektion (blau), Verlust der taktilen Detektion (von Frey, grün); Abdung proximal des Handgelenks zeigt Position des Schlauchs zur Nervenkompression

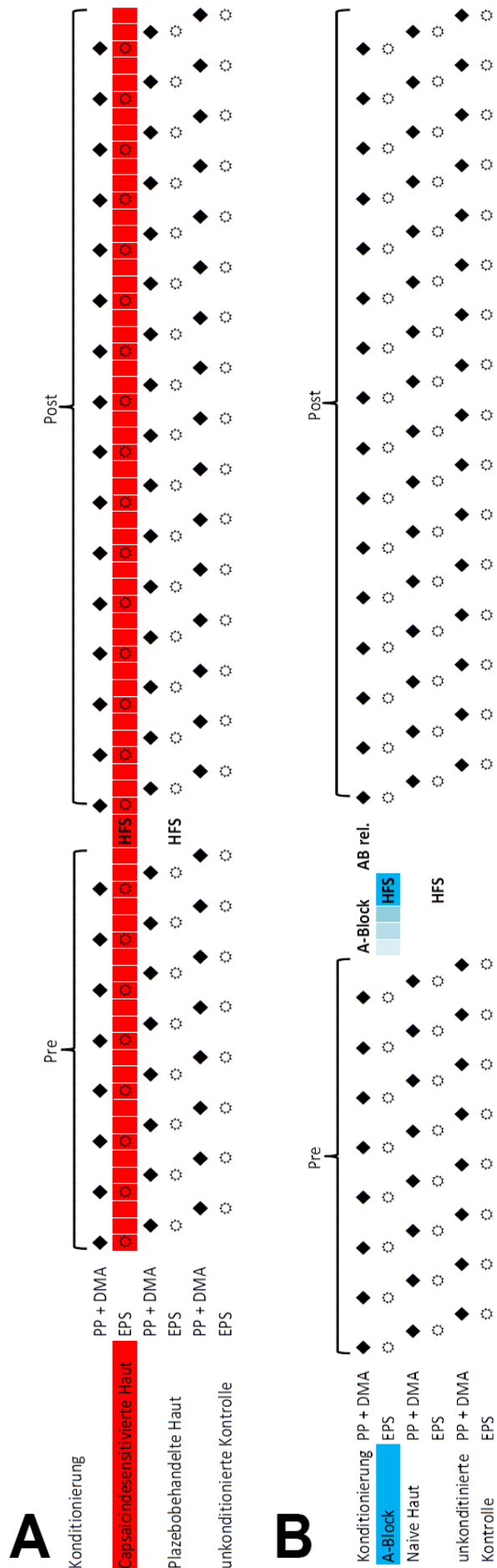


Abbildung 16: Zeitlicher Ablauf der Meßwiederholung der verschiedenen Testreize und Areale.

(A) Zeitverlauf des

Capsaicin desensitivierungsexperiments

(B) Zeitverlauf des A-

Faserblockadeexperiment; PP

Pinprick, DMA Dynamische

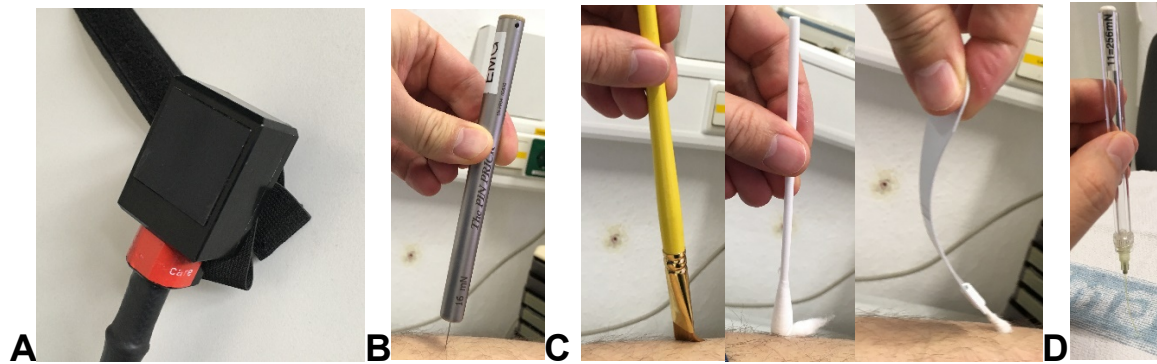
mechanische Allodynie, EPS Sensitivität

für schmerzhafte elektrische Reize, HFS

Hochfrequenz Elektrische Reize zur

Hyperalgesieinduktion, A-Block / AB A-

Faserleitungsblockade.



*Abbildung 17: In den Studien verwendete Testgeräte*

*A Medoc™-Thermode zur Thermotestung; B MRC™ Pinprick; C Baumwolle, Q-Tip und Pinsel zur Allodynie-Testung; D von-Frey-Haar.*

## **7.2 Studienfinanzierung**

Das Capsaicinpflaster (Qutenza®) und capsaicinfreie Vehikelpflaster wurden freundlicherweise von Astellas zur Verfügung gestellt.

Diese Studie wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG - Tr236/19-1, Ma1251/9-2) und dem DFG-geförderten Heidelberg-Mannheim Center Research Grant on Pain Research (Teilprojekt B09 des SFB 1158) gefördert.

## 8 LEBENS LAUF

### PERSONALIEN

Name und Vorname: Henrich, Florian Jan Simon  
Geburtsdatum: 17.01.1979  
Geburtsort: Landau (Pfalz)  
Familienstand: ledig  
Vater: Wolfgang Henrich  
Mutter: Petra Henrich

### SCHULISCHER WERDEGANG

1985-1989 Grundschole Edenkobon  
1989-1995 Realschole Edenkobon  
1995-1998 BBS Landau (Pfalz), Wirtschaftsgymnasium  
25.06.1998 Abitur  
2013-2018 Zentrum für Psychologische Psychotherapie Mannheim  
07.06.2018 Approbation als Psychologischer Psychotherapeut,  
Fachkunde für Verhaltenstherapie, RP BaWü Stuttgart

### UNIVERSITÄRER WERDEGANG

WS2002/2003-  
SS2009 Magister Sportwissenschaft, TU Darmstadt  
01.06.2005 Zwischenprüfung, Note: Sehr gut  
20.07.2009 Magisterprüfung, Note: Gut  
WS2011/2012-  
SS2013 Master Psychologie, Universität Heidelberg  
04.09.2013 Masterprüfung, Note: Gut



## **9 DANKSAGUNG**

Als erstes möchte ich PD Dr. Walter Magerl als Mentor in besonderem Maße danken.

Ebenso danke ich PD Dr. Sigrid Schuh-Hofer als meine Doktormutter.

Herrn Prof. Dr. Rolf-Detlef Treede und PD Dr. Thomas Klein danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichneten Möglichkeiten, es zu bearbeiten.

Darüber hinaus möchte ich OStR Rolf Seger, Joachim Seither, Prof. Dr. Christof Schulz und Andreas Steffen danken.